

DAS VERHALTEN EINIGER ENZYME
DES TRICARBONSÄUREZYKLUS IM LEBERGEWEBE
WÄHREND DER GESTATION BEI RATTEN

Johannes M. Klug

1974

Aus der Frauenklinik
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Professor Dr. V. Friedberg

Das Verhalten einiger Enzyme
des Tricarbonsäurezyklus im Lebergewebe
während der Gestation bei Ratten

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Johannes M. Klug
aus Quellental O/S

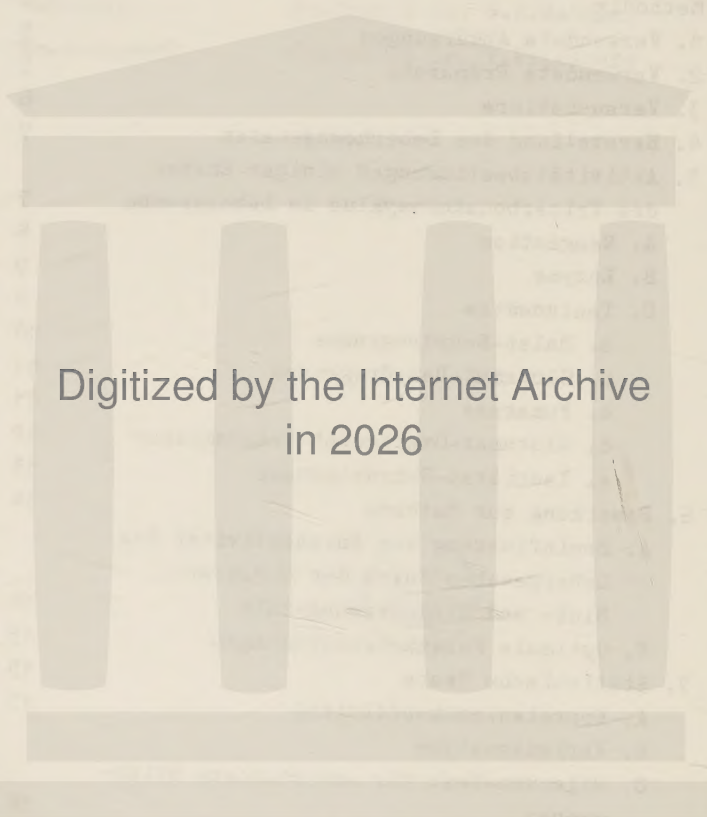
Mainz 1974

Fachbereichsdekan: Professor Dr. Langendorff
Referent: Professor Dr. G.H.Rathgen
Korreferent: Professor Dr. V.Friedberg



Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	3
II. Methodik	5
1. Verwendete Abkürzungen	5
2. Verwendete Präparate	5
3. Versuchstiere	6
4. Herstellung des Leberhomogenates	7
5. Aktivitätsbestimmungen einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus im Lebergewebe	7
A. Reagentien	8
B. Enzyme	9
C. Testansätze	9
a. Malat-Dehydrogenase	10
b. Glutamat-Dehydrogenase	11
c. Fumarase	11
d. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	12
e. Isocitrat-Dehydrogenase	13
6. Bemerkung zur Methode	14
A. Beeinflussung der Enzymaktivität des Lebergewebes durch den Substrat-, Blut- und Bindegewebsgehalt	14
B. Optimale Reaktionsbedingungen	15
7. Statistische Tests	15
A. Korrelationskoeffizient	15
B. Varianzanalyse	
C. Wilcoxon-Test für unverbundene Stich- proben	16
III. Ergebnisse	17
IV. Besprechung der Ergebnisse	58
V. Zusammenfassung	65
VI. Literaturangabe	67



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552619_0099

I. Einleitung

Die Frage nach den Zusammenhängen zwischen Diabetes mellitus und Schwangerschaft war Gegenstand zahlreicher klinischer Untersuchungen.

Vor allem die Leber, die in der Regulation des Blutzuckers eine Schlüsselstellung besitzt, nahm bei diesen Untersuchungen einen breiten Raum ein.

Bereits BERNARD (5) und später SOSKIN und Mitarb. (94) konnten nachweisen, daß die perfundierte Hundeleber bei hohen Blutzuckerspiegeln Glucose aufnimmt und bei niedrigen Werten abgibt. Auch SEALE und CHAIKOFF (93) zeigten mit markierter Glucose eine Hemmung der Glucose-Produktion durch Hyperglykämie. HLAD und Mitarb. (44) fanden, daß die Aufnahme bzw. Abgabe von Glucose direkt proportional der Hypo- bzw. Hyperglykämie ist.

Abgesehen von vereinzelten Kernpolymorphien, die als Ausdruck eines allgemein gesteigerten Stoffwechsels gedeutet werden (DIETEL (16), NIXEN und Mitarb. (64)), bietet die gesunde Leber in der normalen Schwangerschaft morphologisch keine größeren Abweichungen von der Norm. Selbst der Blutstrom durch die Leber nimmt bei der Vermehrung der zirkulierenden Blutmenge während der Gravidität nicht zu. (MUNNEL und TAYLOR (63)). Auch der bei trächtigen Ratten mittels Isotopenuntersuchung gefundene, gesteigerte Umsatz des Kernmaterials kann noch als normal bezeichnet werden (58). Leberfunktionsprüfungen, die während der Schwangerschaft häufiger pathologische Abweichungen als bei nicht schwangeren Frauen zeigen, berechtigen nicht zu der Annahme einer Leberfunktionsstörung, da die meisten dieser Proben nicht als wirklich leberspezifisch anzusehen sind (Friedberg (32) (33)).

Auf Grund zahlreicher Untersuchungen ist es wahrscheinlich, daß der Eintritt der Zucker in die Leberzelle im wesentlichen von der Molekülgröße abhängt und die Glucose frei diffundiert (ROSS (79)). Deshalb muß die Funktion intracellulärer Enzym-Systeme den hepatischen Anteil der Regulation

des Blutzuckers steuern (E. u. F.W. SCHMIDT (87)).

Die komplexe metabolische Störung beim Diabetes mellitus schließt auch den Tricarbonsäurezyklus ein. So hat man sowohl beim Diabetes als auch beim Hunger als Folge der Freisetzung der Fettsäuren aus dem Fettgewebe und wegen des Fehlens der intracellulären Glucose in der Leber einen Anstieg des Acetyl-CoA und der langen Fettsäuren-CoA-Derivate (BELFIORE und Mitarb. (3)) gefunden.

Diese Zusammensetzung verhindert einerseits die Gluconeogenese, andererseits wird sie dadurch begünstigt. Während nämlich Acetyl-CoA die Carboxylierung des Pyruvates zu Oxalacetat fördert, verhindert die Fettsäure-CoA-Derivate die Einmündung von Oxalacetat und Acetyl-CoA in den Tricarbonsäurezyklus, da sie stark Citrat-Synthese hemmend sind (WIELAND und WEISS (107)). Dagegen wird für die Gluconeogenese Phosphoenolpyruvat bevorzugt, das aus Oxalacetat gebildet werden kann.

Die Reaktionen, durch die das Pyruvat und Oxalacetat zur Gluconeogenese überführt werden, bilden den sogenannten "dicarboxylic acid shuttle", der eine metabolische Verbindung zwischen dem glycolytischen Weg und dem Tricarbonsäurezyklus darstellt.

In der vorliegenden Arbeit wurden einige Enzyme des Tricarbonsäurezyklus trächtiger und nichtträchtiger Ratten untersucht, um weitere Vorstellungen von den biochemischen Vorgängen in der Leber zu bekommen.

II. Methodik

1. Verwendete Abkürzungen

Enzyme:

- GLDH - Glutamat-Dehydrogenase (EC-Nr. 1.4.1.2.)
- GOT - Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (EC-Nr. 2.6.1.1.)
- ICDH - Isocitrat-Dehydrogenase (EC-Nr. 1.1.1.42.)
- LDH - Lactat-Dehydrogenase (EC-Nr. 1.1.1.27.)
- MDH - Malat-Dehydrogenase (EC-Nr. 1.1.1.37.)

Nukleotide:

- NAD - Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
(= DPN - Diphosphopyridinnukleotid)
- NADH - Reduzierte Form des NAD
(= DPNA)
- NADP - Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
(= TPN - Triphosphopyridinnukleotid)
- NADPH - Reduzierte Form des NADP
(= TPNH)

Metaboliten des Tricarbonsäurezyklus:

- α KG - α Ketoglutarat

Weitere Abkürzungen:

- EDTA - Äthylendiamin-tetraacetat
- TRAP - Triäthanolamin Puffer
- TRILON- neutralisiertes EDTA
- TRIS - Tris-hydroxymethyl-aminomethan
- FG - Frischgewicht

2. Verwendete Präparate:

Sämtliche Lösungen wurden in dreifach destilliertem Wasser - die beiden letzten Stufen wurden aus einer Quarzapparatur gewonnen - angesetzt.

Die Präparate G1DH, GOT, ICDH, MDH, Fumarase, NAD, NADH, NADP, KG und Fumarat wurden von der Fa. C.F. BOEHRINGER, Mannheim, bezogen.

EDTA, TRAP, TRIS, Aspartat, Hydrazin, Glykokoll-NaOH-Puffer, Isocitrat, Phosphat-Puffer, Ammoniumacetat, $MgSO_4$ und $MnSO_4$ wurden als p.a. Qualität von der Fa. MERCK, Darmstadt, erworben.

Clelands Reagens wurde bei CALBIOCHEM, USA, gekauft.

3. Versuchstiere:

Für die Untersuchungen wurden weibliche Ratten des SPRAGUE-DAWLEY-Stammes verwendet. Die Tragzeit beträgt nach HAGEMANN (37) durchschnittlich 22 Tage und 14 1/2 Stunden. Das Alter der Gravidität wurde nach HENNEBERG (42) aus der durchschnittlichen Foetenlänge bestimmt (Abb. 1). Bei den

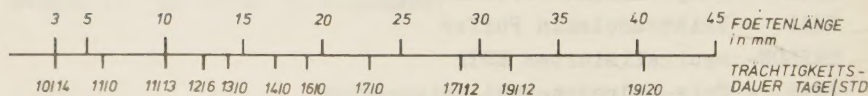


Abb. 1: Zusammenhang zwischen Foetenlänge in mm und Trächtigkeitsdauer in Tagen/Stunden

einzelnen Versuchstieren fanden wir zwischen 4 und 23 Foeten, deren Länge sich zwischen 3 und 47 mm bewegt. Das Gewicht der trächtigen Ratten lag zwischen 250 und 460 g, das der Normaltiere zwischen 150 und 380 g. Die Tiere wurden mit ALTROMIN-Standarddiät und Wasser ad libitum ernährt.

4. Herstellung des Leberhomogenates

Die Ratten wurden mit Äther narkotisiert, die Peritonealhöhle längs eröffnet und die Leber sorgfältig freipräpariert. Mit einem Schnitt durch den Hilus wurde die Leber aus der Leibeshöhle der Ratte herausgenommen, von dem unteren Rand ein Gewebestück entnommen und dieses in flüssigen Stickstoff (-192°) gelegt, um die Enzymreaktion zu unterbinden. Das gefrorene Lebergewebe wurde mit einer Torsionsschnellwaage gewogen und in vorgekühlte, dickwandige Zentrifugengläser gegeben, in denen 1 ml eisgekühltes Aqua tridest. vorgegeben war. Nach Zugabe der ebenfalls gekühlten restlichen Menge des Aqua tridest., wir nahmen 4 ml Aqua tridest. auf 1 g Leberfrischgewicht, wurde die Gewebeprobe mit dem ULTRA-TURRAX 2 mal 30 sec. (Stoppuhr) im Eisbad homogenisiert. Dann wurde das Homogenat in einer Zentrifuge bei 20 000 Umdrehungen/min und 0° C 30 min zentrifugiert. Der klare Überstand wurde in vorgekühlte Gläser dekantiert und diente der Messung der Enzymaktivitäten des Tricarbonsäurecyklus.

Das Frischgewicht der Lebergewebsproben lag zwischen 0,33 und 1,55 g.

5. Aktivitätsbestimmung einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus im Lebergewebe

Alle Enzymaktivitäten wurden im optischen Test nach WARBURG (102), (103) gemessen. Die Registrierung von Extinktionsänderungen durch Pyridinnukleotide, die an einer enzymati-

schen Reaktion teilnehmen, ist die Grundlage dieses Testes. Für die MDH-, G1DH-, Fumarase-, GOT- und ICDH-Aktivitätsmessungen wurden die Coenzyme NAD bzw. NADP benutzt. Da die oxydierten Formen im Wellenbereich von 300-400 m μ nicht absorbieren, NADH und NADPH hingegen ein spezifisches Absorptionsmaximum bei 340 m μ haben, können zahlreiche NAD- und NADP-abhängige enzymatische Reaktionen durch die Zu- oder Abnahme der Extinktion photometrisch verfolgt werden.

Die Messungen wurden im Photometer EPPENDORF mit Schreiber vorgenommen. Die Reaktionsansätze wurden in 10 mm Küvetten im temperierbaren Küvettenhalter bei 25°C und 334 m μ getestet. Die Extinktionsänderung (ΔE) wurde mindestens 10 min. registriert und auf $\Delta E/\text{min}$ berechnet. Als Maß für die Enzymaktivität dient der Umsatz an NADH bzw. NADP, der nach der Formel

$$\frac{\Delta E \cdot V}{\epsilon_{334} d} = \text{Mol Substratumsatz/ml/min}$$

berechnet wurde (ΔE = Extinktionsänderung/min, V = Volumen des Reaktionsansatzes, ϵ_{334} = molarer Extinktionskoeffizient bei 334 nm, d = Schichtdicke).

Alle Aktivitäten wurden in Einheiten (U), bezogen auf mg Frischgewicht der Leber, angegeben.

A. Reagentien

Zur Herstellung der Lösungen wurden alle Reagentien auf einer Analysenwaage gewogen.

NAD	ca. $2,5 \cdot 10^{-2}$ M
NADH	ca. $2,4 \cdot 10^{-2}$ M
NADP	$3,0 \cdot 10^{-2}$ M
EDTA	0,05 M
TRILON	ca. 0,26 M
Hydrazin	1,6 M

Hydrazin-Glykokoll-NaOH-Puffer pH 9,5	Hydrazin	0,4	M
	Glykokoll	1,0	M
Phosphat-Puffer pH 7,4		0,1	M
Phosphat-Puffer pH 7,6		0,1	M
TRAP pH 8		0,05	M
TRIS pH 7,4		0,1	M
Ammoniumacetat		3	M
Asparat für GOT-Bestimmung		$2,5 \cdot 10^{-1}$	M
Asparat für MDH-Bestimmung		$4,2 \cdot 10^{-2}$	M
α KG für GlDH-Bestimmung		0,2	M
α KG für MDH-Bestimmung		$6 \cdot 10^{-2}$	M
Fumarat		0,2	M
Isocitrat	40 mM/ml Reaktionsansatz		
MgSO ₄		0,1	M
MnSO ₄		0,02	M
Clelands Reagenz	4 % Lösung		

B. Enzyme

Kristallsuspensionen von:

GOT (2 mg Protein/ml)

LDH (5 mg Protein/ml)

MDH (5 mg Protein/ml)

C. Testansätze:

Für alle Tests wurden folgende Bedingungen eingehalten:

Gesamtvolumen des Reaktionsansatzes:	3 ml
Temperatur:	25° C
Wellenlänge der Meßstrahlung:	334 nm
Schichtdicke:	10 mm
Registrierbereich des Schreibers:	0 - 1

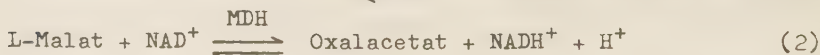
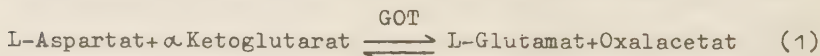
Überstände, Hilfsfermente und Substrate standen während der Messungen im Eisbad.

Den Testansätzen liegen Angaben von BERGMAYER (4) und COLOWICK und KAPLAN (11) zugrunde. In Vorversuchen wurden für jedes Ferment die optimalen Konzentrationen der Reaktionspartner bestimmt.

a. Malat-Dehydrogenase (MDH) (EC-Nr.1.1.1.37.)

Reaktionsmechanismus:

Unter der Einwirkung von MDH wird L-Malat mit NAD zu Oxalacetat und NADH überführt (2). Die optimale Reaktion ist bei einem pH von 7,4 gegeben (J.R. STEIN u. Mitarb. (96)). Da Oxalacetat in wäßriger Lösung instabil ist und zum Teil auch zu Pyruvat decarboxyliert wird, mißt man in älteren Oxalacetat-Lösungen teilweise die Lactat-Dehydrogenase-Aktivität des Überstandes mit. Diese Schwierigkeit läßt sich umgehen, wenn man aus α -Ketoglutarat und L-Aspartat mit Glutamat-Oxalacetat-Transaminase in der Küvette kurz vor der MDH-Bestimmung die optimale Menge Oxalacetat erzeugt (1). (R. ORDELL (67)). Die pro Zeiteinheit umgesetzte Oxalacetat-Menge, gemessen an der Abnahme der NADH-Extinktion, ist ein Maß für die MDH-Aktivität.



Testansatz:

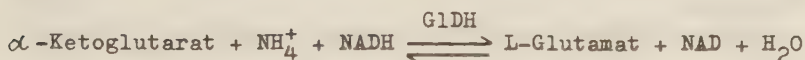
Überstand	0,01 ml	1:10 mit Aqua tridest. verdünnt
NADH	$0,4 \cdot 10^{-6}$ M/ml	Reaktionsansatz
GOT	0,033 mg	Protein/Reaktionsansatz
α -KG	$0,1 \cdot 10^{-5}$ M/ml	Reaktionsansatz
Phosphat-Puffer	$0,9 \cdot 10^{-4}$ M/ml	Reaktionsansatz pH 7,4 ad 3ml

Der Start der Reaktion erfolgte mit dem Überstand des Leberhomogenates.

b. Glutamat-Dehydrogenase (G1DH) (EC-Nr. 1.4.1.2.)

Reaktionsmechanismus:

Die Glutamat-Dehydrogenase katalysiert das α -Ketoglutarat mit NADH zu L-Glutamat. Die Reaktion ist an die Anwesenheit von NH_4^+ gebunden. Das Gleichgewicht liegt weit auf der Seite der Aminosäure-Bindung. Die Oxydation von NADH ist dem Substrat-Umsatz direkt proportional und kann an der Extinktions-Abnahme (ΔE) bei 334 m μ abgelesen werden.



Testansatz:

Überstand		0,02 ml
NADH	$0,4 \cdot 10^{-6}$ M/ml Reaktionsansatz	
α -KG	$0,33 \cdot 10^{-5}$ M/ml Reaktionsansatz	
TRILON	$0,173 \cdot 10^{-5}$ M/ml Reaktionsansatz	
Ammoniumacetat	$0,1 \cdot 10^{-3}$ M/ml Reaktionsansatz	
TRAP	$0,46 \cdot 10^{-4}$ M/ml Reaktionsansatz	pH 8 ad 3 ml

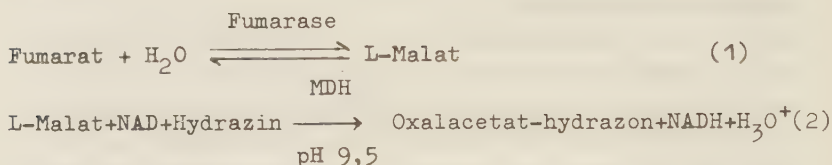
Der Start der Reaktion erfolgte mit α -Ketoglutarat.

c. Fumarase (EC-Nr. 4.2.1.2.)

Reaktionsmechanismus:

Die Bestimmung der Fumarase beruht auf der Umwandlung von Fumarat in Oxalacetat. Die Fumarase katalysiert Fumarat in L-Malat (1). Das L-Malat wird durch Malat-Dehydrogenase unter Reduktion von NAD zu NADH in Oxalacetat umgewandelt. Das Gleichgewicht dieser Reaktion liegt weit auf der Seite des Malats. Um eine praktisch quantitative Dehydrierung von L-Malat zu erreichen, müssen die Reaktionsprodukte aus dem Gleichgewicht entfernt werden. Protonen werden durch ein alkalisches Reaktionsmedium gebunden, Oxalacetat wird als Hydrazone abgefangen (2). Die dem opti-

schen Test für L-Malat zugrundeliegende Gleichung lautet demnach:



Testansatz:

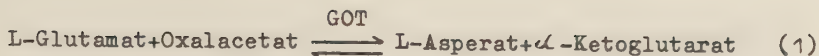
Überstand			0,05 ml
NAD	0,416	$\cdot 10^{-6}$ M/ml Reaktionsansatz	
MDH	0,0166	mg Protein/ml Reaktionsansatz	0,02 ml
Fumarat	0,666	$\cdot 10^{-5}$ M/ml Reaktionsansatz	
EDTA	0,1666	$\cdot 10^{-5}$ M/ml Reaktionsansatz	
Hydrazin	0,266	$\cdot 10^{-3}$ M/ml Reaktionsansatz	
MgSO ₄	0,333	$\cdot 10^{-5}$ M/ml Reaktionsansatz	
Hydrazin-Glycocoll-NaOH-Puffer pH 9,5		ad	3 ml
(Hydrazin $0,265 \cdot 10^{-3}$ M und Glycocoll-NaOH-Puffer $0,663 \cdot 10^{-3}$ M/ml Reaktionsansatz)			

Der Start der Reaktion erfolgte mit NAD.

d. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) (EC-Nr.2.6.1.1.)

Reaktionsmechanismus:

Aus L-Aspartat und α -Ketoglutarat entsteht durch die Einwirkung von GOT L-Glutamat und Oxalacetat (1). Man mißt die Aktivität der Transaminase an Hand der zeitlichen Zunahme des Oxalacetats. Dieses wird mit der durch MDH katalysierten Indikator-Reaktion bestimmt. Das Oxalacetat wird durch MDH zu Malat umgewandelt (2). Der Verbrauch an reduziertem NADH ist der Oxalacetat-Menge proportional. Gemessen wird die Abnahme der NADH-Extinktion bei 334 m μ (KARMEN (54)).



Testansatz:

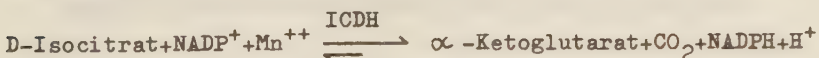
Überstand		0,005 ml
NADH	$0,4 \cdot 10^{-6} \text{ M/ml}$	Reaktionsansatz
MDH	$0,0333 \text{ mg/ml}$	Reaktionsansatz 0,02 ml
Phosphat-Puffer	$0,906 \cdot 10^{-4} \text{ M/ml}$	Reaktionsansatz pH 7,6 ad 3ml
Aspartat	$0,833 \cdot 10^{-5} \text{ M/ml}$	Reaktionsansatz

Der Start der Reaktion erfolgte mit dem α -Ketoglutarat.

e. Isocitrat-Dehydrogenase (ICDH) (EC-Nr. 1.1.1.42.)

Reaktionsmechanismus:

Unter der Einwirkung von ICDH wird durch oxydative Decarboxylation Isocitrat mit NADP^+ zu α -Ketoglutarat, CO_2 und $\text{NADPH} + \text{H}^+$ überführt. Das Gleichgewicht der Reaktion liegt weit auf der Seite des α -Ketoglutarat und ist an die Anwesenheit von Mn^{++} gebunden. Der optimale pH Wert beträgt 7,4.



Testansatz:

Überstand		0,1 ml
NADP	$0,1 \cdot 10^{-5} \text{ M/ml}$	Reaktionsansatz
Isocitrat	$4 \cdot 10^{-2} \text{ M/ml}$	Reaktionsansatz
TILON	$1,73 \cdot 10^{-6} \text{ M/ml}$	Reaktionsansatz
MnSO_4	$0,133 \cdot 10^{-4} \text{ M/ml}$	Reaktionsansatz
Tris-Puffer	$0,775 \cdot 10^{-4} \text{ M/ml}$	Reaktionsansatz pH 7,4 ad 3ml
Clelands Reagenz	$0,666 \cdot 10^{-7} \text{ M/ml}$	Reaktionsansatz

Der Start der Reaktion erfolgte mit NADP.

6. Bemerkung zur Methodik

Mit der Methode nach POTTER-ELVEHJEM (71) würden die Enzyme MDH, Fumarase, ICDH, GOT und G1DH nicht quantitativ in den Überstand geführt werden können (SCHMIDT u. Mitarb. (89)), da MDH, Fumarase, ICDH und GOT sowohl im Zytoplasma gelöst, als auch in den Mitochondrien gebunden vorliegen (RICHTERICH, R. (76), (E. und F.W. SCHMIDT (92))). Die G1DH ist nur in den Mitochondrien der Zellen enthalten (HOGEBOOM und SCHNEIDER (45), E. u. F.W. SCHMIDT (86, 89)). Deshalb wurde die Homogenisation im ULTRA-TURRAX durchgeführt. Mit diesem Verfahren kann man den mitochondrialen Raum eröffnen und die in den Mitochondrien befindlichen Enzyme gelangen in den Überstand. Da aber die Homogenisation im ULTRA-TURRAX in Abhängigkeit von der Zeit zahlreiche cytoplasmatisch lokalisierte Enzyme hemmt (SCHMIDT u. SCHMIDT (88)), homogenisierten wir nur 2 x 30 sec.

A. Beeinflussung der Enzymaktivität des Lebergewebes durch den Substrat-, Blut- und Bindegewebsgehalt

Wie Untersuchungen von SCHMIDT u. Mitarb. (88) gezeigt haben, sind die Nebenreaktionen als Folge des Substratgehaltes des Homogenat-Überstandes so gering, daß sie weit unter die Fehlerbreite der Methodik fallen. Die Beeinflussung der Enzymaktivität der Rattenleber durch den Blutgehalt der Leberproben sind so gering, daß der Blutgehalt als Störgröße vernachlässigt werden kann (HOLZER (48)). Zu gleichen Untersuchungsergebnissen kamen auch SCHMIDT u. Mitarb. (85) an der menschlichen Leber.

Um einen weiteren Störfaktor, den Bindegewebsanteil der Leberproben konstant zu halten, bzw. auszuschalten, er-

folgte die Gewebsentnahme bei allen Versuchstieren aus dem scharfen Rand eines Leberlappens.

B. Optimale Reaktionsbedingungen

Wie eine Überprüfung der in der Literatur angegebenen Testvorschriften ergab, waren die meisten angegebenen Konzentrationen der Reaktionspartner für unsere Versuchsansätze nicht optimal. Deshalb ermittelten wir an Hand von Vorversuchen die für unsere Verhältnisse optimalen Reaktionsbedingungen.

7. Statistische Tests

A. Korrelationskoeffizient

Mit der Berechnung des Korrelationskoeffizienten (r) wurde geprüft, ob eine Abhängigkeit aller untersuchten Enzymaktivitäten im Lebergewebe von Ratten

a) vom Gewicht

b) von der Foetenlänge (Dauer der Trächtigkeit)

besteht.

Aus n Wertpaaren (x = Länge der Foeten in mm,
 y = Enzymaktivität)

wurde der Korrelationskoeffizient berechnet (81).

B. Varianzanalyse

Die Frage nach einem Unterschied der Enzymaktivität in der Leber zwischen trächtigen und nichtträchtigen Ratten und zwischen Ratten, die 6 und 12 Stunden gehungert haben, untersuchten wir mit der einfachen Varianzanalyse (KOLLER (56)).

C. WILCOXON-Test für unverbundene Stichproben

a) Um feststellen zu können, ob während der Schwangerschaft eine Änderung der Enzymaktivitäten eintritt, faßten wir Ratten mit annähernd gleicher Trächtigkeitsdauer in Gruppen zusammen und testeten sie wegen geringer Fallzahl mit dem parameterfreien Test nach Wilcoxon gegeneinander (SACHS (81)).

b) Diesen Gruppen mit annähernd gleicher Trächtigkeitsdauer stellten wir die nichtträchtigen Ratten gegenüber und wendeten ebenfalls den Wilcoxon-Test an. Damit wollten wir feststellen, ob ein Unterschied in der Enzymaktivität von trächtigen und nichtträchtigen Ratten in verschiedenen Trächtigkeitsstadien besteht.

Um zwischen den trächtigen und nichtträchtigen Ratten eine gleiche Fallzahl zu bekommen, nahmen wir mit Hilfe der Zufallstafel bei den nichtträchtigen Ratten eine Auslese vor.

Der Wilcoxon-Test wird folgendermaßen durchgeführt: man numeriert die Werte beider Reihen gemeinsam von 1 bis $(n_1 + n_2) = n$ durch. Mehrfach vorkommende Werte erhalten als Rangnummer den Mittelwert der auf sie entfallenden Plätze. Die Rangnummern jeder Reihe werden summiert und man erhält die Rangsumme. R_1 und R_2 mit $R_1 + R_2 = 1/2 n \cdot (n + 1)$.

Bei nur zufälligen Unterschieden zwischen den Reihen ist der Erwartungswert (E) für R_1

$$E(R_1) = 1/2 n_1 (n + 1)$$

Die Grenzen des Zufallsbereiches für die Differenz

$$R_1 - 1/2 n_1 (n + 1) = C \text{ (Testgröße)}$$

sind in der zuständigen Tafel des Wilcoxon-Rangtestes für 2 unabhängige Beobachtungsreihen abzulesen.

III. Ergebnisse:

Die Aktivitäten der Malat-Dehydrogenase (MDH), Glutamat-Dehydrogenase (GIDH), Fumarase, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und Isocitrat-Dehydrogenase (ICDH) im Lebergewebe trächtiger Ratten nach 6 Stunden Nahrungsentzug sind in der Tab. 1 und 1a und der Abb. 2 den nachgewiesenen Aktivitäten gegenübergestellt, die in der Leber von 6 Stunden hungrigen weiblichen nichtträchtigen Tieren gefunden wurden.

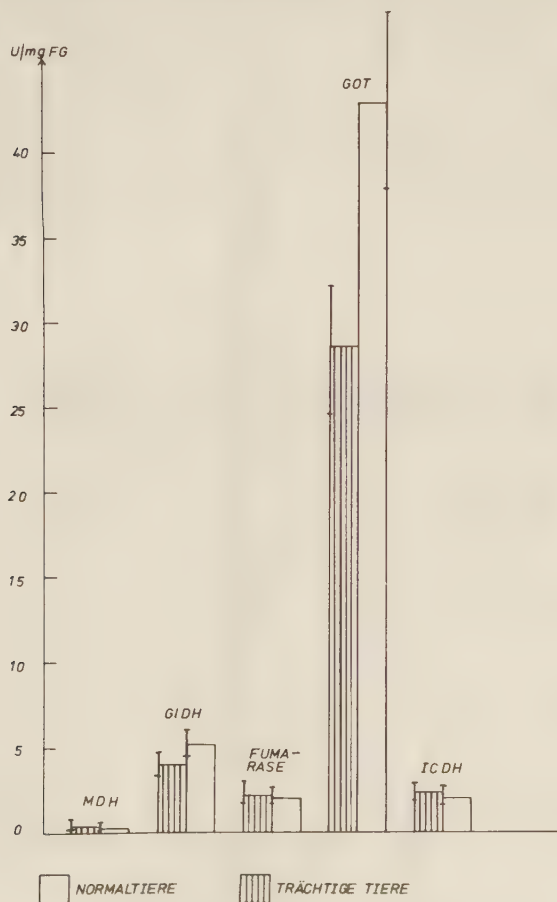


Abb. 2 Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus in der Leber trächtiger und nichtträchtiger Ratten mit 6 Stunden Nahrungskarenz.

| = Standardabweichung

Für die MDH ergab sich während der Gestation eine signifikante Aktivitätszunahme bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 1 %. Bei der GlDH und GOT ergaben sich signifikante Aktivitätsabnahmen bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 1 % und ein statistisch auffälliger Unterschied bei der GlDH. Fumarase und ICDH zeigten keine Unterschiede.

In Tabelle 2 und 2a und der Abb. 3 sind die Aktivitäten der MDH, GlDH, Fumarase, GOT und ICDH im Lebergewebe trächtiger

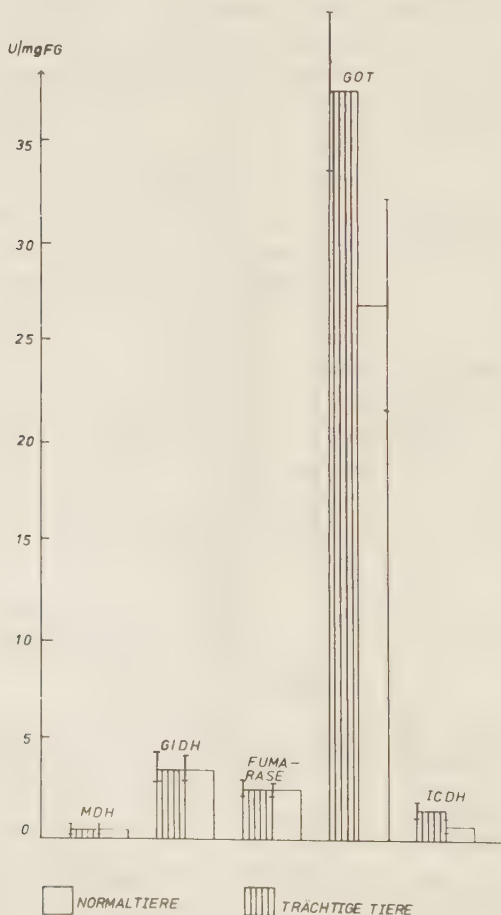


Abb. 3 Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus in der Leber trächtiger und nichtträchtiger Ratten mit 12 Stunden Nahrungskarenz

Tabelle 1 Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tricarbon-säurezyklus in der Leber trächtiger und nichtträch-tiger Ratten mit 6 Stunden Nahrungskarenz (Datenbe-schreibung)

Enzym	trächtige Tiere			nichtträchtige Tiere		
	n	$\bar{x}$	$\pm s$	n	$\bar{x}$	$\pm s$
MDH	18	0,359	0,045	12	0,252	0,047
GLDH	23	$3,986 \cdot 10^{-3}$	$1,460 \cdot 10^{-3}$	16	$5,249 \cdot 10^{-3}$	$1,485 \cdot 10^{-3}$
Fuma- rase	24	$2,202 \cdot 10^{-3}$	$0,767 \cdot 10^{-3}$	15	$2,095 \cdot 10^{-3}$	$0,690 \cdot 10^{-3}$
GOT	24	$28,824 \cdot 10^{-3}$	$9,390 \cdot 10^{-3}$	14	$43,164 \cdot 10^{-3}$	$21,120 \cdot 10^{-3}$
ICDH	23	$2,415 \cdot 10^{-3}$	$0,954 \cdot 10^{-3}$	10	$2,026 \cdot 10^{-3}$	$0,079 \cdot 10^{-3}$

n = Fallzahl

s = Standardabweichung

$\bar{x}$ = Gruppenmittel (U/mg FG)

Tabelle 2 Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tricarbon-säurezyklus in der Leber trächtiger und nicht-trächtiger Ratten mit 12 Stunden Nahrungskarenz (Datenbeschreibung)

Enzym	trächtige Tiere			nichtträchtige Tiere		
	n	$\bar{x}$	$\pm s$	n	$\bar{x}$	$\pm s$
MDH	12	0,433	0,072	20	0,420	0,070
GLDH	12	$3,442 \cdot 10^{-3}$	$1,287 \cdot 10^{-3}$	20	$3,458 \cdot 10^{-3}$	$1,816 \cdot 10^{-3}$
Fuma- rase	12	$2,551 \cdot 10^{-3}$	$1,100 \cdot 10^{-3}$	20	$2,564 \cdot 10^{-3}$	$0,779 \cdot 10^{-3}$
GOT	12	$37,450 \cdot 10^{-3}$	$16,000 \cdot 10^{-3}$	21	$27,930 \cdot 10^{-3}$	$8,426 \cdot 10^{-3}$
ICDH	12	$1,580 \cdot 10^{-3}$	$0,656 \cdot 10^{-3}$	17	$0,711 \cdot 10^{-3}$	$0,571 \cdot 10^{-3}$

n = Fallzahl

s = Standardabweichung

$\bar{x}$ = Gruppenmittel (U/mg FG)

Tab. 1a Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus in der Leber trächtiger und nichtträchtiger Ratten mit 6 Stunden Nahrungskarenz (Varianzanalysetabelle)

Enzym	Streuungs- ursache	SAQ	f	MAQ	F	Test- ergebnis
MDH	zwischen den Gruppen	0,083	1	0,083	43,684	++
	innerhalb der Gruppen	0,056	29	0,022		
	insgesamt	0,139	30			
GIDH	zwischen den Gruppen	15,066 · 10 ³	1	15,066 · 10 ³	6,969	+
	innerhalb der Gruppen	79,989 · 10 ³	37	2,162 · 10 ³		
	insgesamt	95,055 · 10 ³	38			
Fuma- rase	zwischen den Gruppen	0,109 · 10 ³	1	0,109 · 10 ³	0,199	-
	innerhalb der Gruppen	20,194 · 10 ³	37	0,546 · 10 ³		
	insgesamt	20,303 · 10 ³	38			
GOT	zwischen den Gruppen	1948,870 · 10 ³	1	1948,870 · 10 ³	8,800	++
	innerhalb der Gruppen	7307,974 · 10 ³	33	221,454 · 10 ³		
	insgesamt	9256,844 · 10 ³	34			
ICDH	zwischen den Gruppen	1,197 · 10 ³	1	1,197 · 10 ³	1,103	-
	innerhalb der Gruppen	33,639 · 10 ³	31	1,085 · 10 ³		
	insgesamt	34,835 · 10 ³	32			

SAQ = Summe der Abweichungsquadrate

MAQ = mittlere Abweichungsquadrate

f = Freiheitsgrad

F = Testgröße

- = Testergebnis negativ

+ = 5 % Niveau = statistisch auffällig

++ = 1 % Niveau = statistisch signifikant

Tab. 2a Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus in der Leber trächtiger und nichtträchtiger Ratten mit 12 Stunden Nahrungskarenz (Varianzanalysetabelle)

Enzym	Streuungs- ursache	SAQ	f	MAQ	F	Tester- gebnis
MDH	zwischen den Gruppen	0,001	1	0,001	0,102	-
	innerhalb der Gruppen	0,149	30	0,005		
	insgesamt	0,150	31			
GLDH	zwischen den Gruppen	0,006 · 10 ³	1	0,006 · 10 ³	0,002	-
	innerhalb der Gruppen	80,897 · 10 ³	30	2,697 · 10 ³		
	insgesamt	80,903 · 10 ³	31			
Fuma- rase	zwischen den Gruppen	0,004 · 10 ³	1	0,004 · 10 ³	0,005	-
	innerhalb der Gruppen	24,848 · 10 ³	30	0,828 · 10 ³		
	insgesamt	24,852 · 10 ³	31			
GOT	zwischen den Gruppen	691,838 · 10 ³	1	691,838 · 10 ³	5,062	+
	innerhalb der Gruppen	4236,860 · 10 ³	31	136,673 · 10 ³		
	insgesamt	4928,698 · 10 ³	32			
ICDH	zwischen den Gruppen	5,322 · 10 ³	1	5,322 · 10 ³	14,439	++
	innerhalb der Gruppen	9,955 · 10 ³	27	0,369 · 10 ³		
	insgesamt	15,277 · 10 ³	28			

SAQ = Summe der Abweichungsquadrate
MAQ = mittlere Abweichungsquadrate
f = Freiheitsgrad
F = Testgröße
- = Testergebnis negativ
+ = 5 % Niveau = statistisch auffällig
++ = 1 % Niveau = statistisch signifikant

Ratten nach 12 Stunden Nahrungsentzug mit den nachgewiesenen Aktivitäten verglichen worden, die in der Leber von 12 Stunden hungernden weiblichen nichtträchtigen Tieren gefunden wurden. Für GOT und ICDH ergab sich eine statistisch auffällige Aktivitätszunahme während der Trächtigkeit bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5 % im Falle der GOT sowie eine signifikante von weniger als 1 % für die ICDH. Alle anderen in Tabelle 2 und 2a aufgeführten Enzyme zeigten keine nachweisbaren Unterschiede.



Abb. 4 Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tri-carbonsäurezyklus in der Leber nichtträchtiger Ratten mit 6 und 12 Stunden Nahrungsentzug

Aktivitätsänderungen von MDH, GlDH, Fumarase, GOT und ICDH im Lebergewebe zwischen nichtträchtigen Ratten mit 6- und 12stündiger Nahrungskarenz sind in Tab. 3 und 3a und Abb. 4 zusammengefaßt.

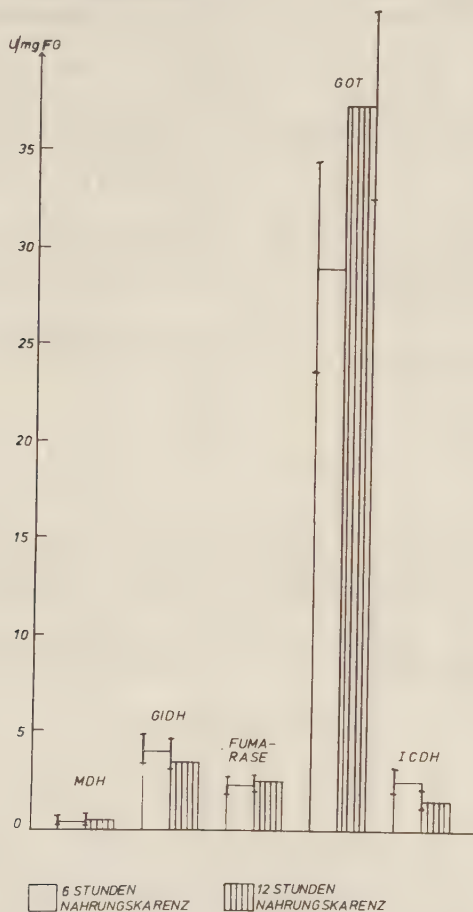


Abb. 5 Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tri-carbonsäurezyklus in der Leber trächtiger Ratten mit 6 und 12 Stunden Nahrungsentzug

Bei den Ratten mit 12 Stunden Nahrungskarenz ergab sich im Vergleich zu 6 Stunden hungernden Ratten für MDH eine

Tabelle 3 Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tricarbon-
säurezyklus in der Leber nichtträchtiger Ratten
mit 6 und 12 Stunden Nahrungsentzug (Datenbe-
schreibung)

Enzym	nichtträchtige Tiere mit 6 Std.Nahrungsentzug			nichtträchtige Tiere mit 12 Std.Nahrungsentzug		
	n	$\bar{x}$	$\pm s$	n	$\bar{x}$	$\pm s$
MDH	12	0,252	0,047	20	0,420	0,070
GLDH	16	$5,062 \cdot 10^{-3}$	$1,485 \cdot 10^{-3}$	20	$3,458 \cdot 10^{-3}$	$1,816 \cdot 10^{-3}$
Fuma- rase	15	$2,095 \cdot 10^{-3}$	$0,690 \cdot 10^{-3}$	20	$2,564 \cdot 10^{-3}$	$0,779 \cdot 10^{-3}$
GOT	14	$43,164 \cdot 10^{-3}$	$21,120 \cdot 10^{-3}$	21	$27,930 \cdot 10^{-3}$	$8,426 \cdot 10^{-3}$
ICDH	10	$2,026 \cdot 10^{-3}$	$0,079 \cdot 10^{-3}$	17	$0,711 \cdot 10^{-3}$	$0,571 \cdot 10^{-3}$

n = Fallzahl s = Standardabweichung
 $\bar{x}$ = Gruppenmittel (U/mg FG)

Tabelle 4 Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tricarbon-
säurezyklus in der Leber trächtiger Ratten mit 6 und
12 Stunden Nahrungsentzug (Datenbeschreibung)

Enzym	trächtige Tiere mit 6 Std.Nahrungsentzug			trächtige Tiere mit 12 Std.Nahrungsentzug		
	n	$\bar{x}$	$\pm s$	n	$\bar{x}$	$\pm s$
MDH	18	0,359	0,045	12	0,433	0,072
GLDH	23	$3,986 \cdot 10^{-3}$	$1,460 \cdot 10^{-3}$	12	$3,442 \cdot 10^{-3}$	$1,287 \cdot 10^{-3}$
Fuma- rase	24	$2,202 \cdot 10^{-3}$	$0,767 \cdot 10^{-3}$	12	$2,551 \cdot 10^{-3}$	$1,100 \cdot 10^{-3}$
GOT	24	$28,824 \cdot 10^{-3}$	$9,390 \cdot 10^{-3}$	12	$37,450 \cdot 10^{-3}$	$16,000 \cdot 10^{-3}$
ICDH	23	$2,415 \cdot 10^{-3}$	$0,954 \cdot 10^{-3}$	12	$1,580 \cdot 10^{-3}$	$0,656 \cdot 10^{-3}$

n = Fallzahl s = Standardabweichung
 $\bar{x}$ = Gruppenmittel (U/mgFG)

Tab. 3a Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus in der Leber nicht-trächtiger Ratten mit 6 und 12 Stunden Nahrungsentzug (Varianzanalysetabelle)

Enzym	Streuungs- ursache	SAQ	f	MAQ	F	Tester- gebnis
MDH	zwischen den Gruppen	0,211	1	0,211	55,395	++
	innerhalb der Gruppen	0,117	30	0,004		
	insgesamt	0,328	31			
GLDH	zwischen den Gruppen	22,878 · 10 ³	1	22,878 · 10 ³	7,955	++
	innerhalb der Gruppen	97,780 · 10 ³	34	2,876 · 10 ³		
	insgesamt	120,658 · 10 ³	35			
Fuma- rase	zwischen den Gruppen	1,885 · 10 ³	1	1,885 · 10 ³	3,422	-
	innerhalb der Gruppen	18,182 · 10 ³	33	0,550 · 10 ³		
	insgesamt	20,067 · 10 ³	34			
GOT	zwischen den Gruppen	1948,870 · 10 ³	1	1948,870 · 10 ³	8,800	++
	innerhalb der Gruppen	7307,974 · 10 ³	33	221,454 · 10 ³		
	insgesamt	9256,844 · 10 ³	34			
ICDH	zwischen den Gruppen	10,457 · 10 ³	1	10,457 · 10 ³	13,883	++
	innerhalb der Gruppen	18,831 · 10 ³	25	0,753 · 10 ³		
	insgesamt	29,288 · 10 ³	26			

SAQ = Summe der Abweichungsquadrate

MAQ = mittlere Abweichungsquadrate

f = Freiheitsgrad

F = Testgröße

- = Testergebnis negativ

++ = 1 % Niveau = statistisch signifikant

Tab. 4a Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus in der Leber trächtiger Ratten mit 6 und 12 Stunden Nahrungsentzug (Varianzanalysetabelle)

Enzym	Streuungs- ursache	SAQ	f	MAQ	F	Test- ergebnis
MDH	zwischen den Gruppen	0,039	1	0,039	12,548	++
	innerhalb der Gruppen	0,088	28	0,003		
	insgesamt	0,127	29			
GLDH	zwischen den Gruppen	2,335 · 10 ³	1	2,335 · 10 ³	1,184	-
	innerhalb der Gruppen	65,101 · 10 ³	33	1,973 · 10 ³		
	insgesamt	67,436 · 10 ³	34			
Fuma- rase	zwischen den Gruppen	0,977 · 10 ³	1	0,977 · 10 ³	1,237	-
	innerhalb der Gruppen	26,861 · 10 ³	34	0,790 · 10 ³		
	insgesamt	27,838 · 10 ³	35			
GOT	zwischen den Gruppen	595,339 · 10 ³	1	595,339 · 10 ³	4,178	+
	innerhalb der Gruppen	4844,646 · 10 ³	34	142,490 · 10 ³		
	insgesamt	5439,985 · 10 ³	35			
ICDH	zwischen den Gruppen	5,486 · 10 ³	1	5,486 · 10 ³	7,312	+
	innerhalb der Gruppen	24,762 · 10 ³	33	0,750 · 10 ³		
	insgesamt	30,248 · 10 ³	34			

SAQ = Summe der Abweichungsquadrate
MAQ = mittlere Abweichungsquadrate
f = Freiheitsgrad
F = Testgröße
- = Testergebnis negativ
+ = 5 % Niveau = statistisch auffällig
++ = 1 % Niveau = statistisch signifikant

signifikante Aktivitätszunahme bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 1 %. G1DH, GOT und ICDH zeigen hingegen eine signifikante Herabsetzung der Aktivität bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 1 %. Kein signifikanter Unterschied war bei der Fumarase nachzuweisen.

Die Aktivitäten von MDH, G1DH, Fumarase, GOT und ICDH in der Leber trächtiger Tiere mit 6- und 12stündiger Nahrungskarenz sind in Tab. 4 und 4a und der Abb. 5 zusammengefaßt.

Danach ergab sich für Ratten, die 12 Stunden Nahrungsentzug hatten, wiederum im Vergleich zu 6 Stunden hungernden Ratten, eine signifikante Aktivitätszunahme für MDH und GOT bei weniger als 1 % Irrtumswahrscheinlichkeit für MDH und eine auffällige bei einer 5%igen Irrtumswahrscheinlichkeit für GOT. Die ICDH zeigt eine auffällige Aktivitätsabnahme bei weniger als 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit. Die Fumarase und die G1DH zeigen keinen nachweisbaren Unterschied zwischen trächtigen Ratten mit 6 und 12 Stunden Hunger.

Die Abhängigkeit der Aktivität von MDH, G1DH, Fumarase, GOT und ICDH vom Rattengewicht bei nichtträchtigen Tieren mit 6- bzw. 12 Stunden Nahrungskarenz ist in den Tab. 5 bzw. 6 zusammengefaßt.

Alle in Tab. 5 und 6 aufgeführten Enzyme zeigen keine signifikante Korrelation zwischen den beiden Größen. Da das Rattengewicht bei nichtträchtigen Ratten, die 6 Stunden hungerten, eine große Streuung aufwies, 150 - 380 g, wurden die Ratten in zwei Gewichtsklassen eingeteilt. Dadurch wurde ausgeschlossen, daß zwischen den beiden Gruppen eine Enzymaktivitätszu- bzw. Abnahme besteht, die sich bei der Zusammenfassung aller Gewichte ausgleichen und so unter das Signifikansniveau fallen könnte.

Wie aus Tab. 5a zu ersehen ist, ergeben sich für alle Enzyme auch innerhalb der Gewichtsklassen keine Korrelation.

Tabelle 5 Abhängigkeit der Aktivität einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus vom Gewicht bei nichtträchtigen Ratten mit 6 Stunden Nahrungskarenz

Enzym	n	Rattengewicht		$\pm s$	Enzymaktivität		r	Tester- gebnis
		g	$\bar{x}$		$\bar{y}$ (U/mg FG)	($\pm s$)		
MDH	12	130-360	194,2	76,5	0,252	0,047	0,570	-
GLDM	16	130-380	223,7	88,5	5,249 $\cdot 10^{-3}$	1,485 $\cdot 10^{-3}$	0,210	-
Fuma- rase	15	150-380	243,3	91,6	2,094 $\cdot 10^{-3}$	0,690 $\cdot 10^{-3}$	0,350	-
GOT	14	150-380	250,0	89,0	43,160 $\cdot 10^{-3}$	21,120 $\cdot 10^{-3}$	0,340	-
ICDH	10	150-380	276,0	91,1	2,026 $\cdot 10^{-3}$	0,079 $\cdot 10^{-3}$	0,079	-

n = Fallzahl

g = Gramm

$\bar{x}$ = Mittelwert der Rattengewichte

$\bar{y}$ = Mittelwert der Enzymaktivität

- = Testergebnis negativ

s = Standardabweichung

r = Korrelationskoeffizient

Tabelle 5a

Abhängigkeit der Aktivität einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus vom Gewicht bei nichtträchtigen Ratten mit 6 Stunden Nahrungskarenz aufgeteilt nach Gewichtsklassen.

Enzym	Rattengewicht			Enzymaktivität		r	Tester- gebnis
	n	g	$\bar{x}$	$\pm s$	$\bar{y}$ (U/mg FG)	$(\pm s)$	
MDH	8	150 - 160	156,2	5,1	0,231	0,032	0,240
	3	270 - 360	316,6	45,1	0,291	0,056	0,992
GIDH	8	150 - 160	156,2	5,1	4,645 $\cdot 10^{-3}$	1,412 $\cdot 10^{-3}$	-0,058
	4	320 - 340	320,0	11,5	5,372 $\cdot 10^{-3}$	0,930 $\cdot 10^{-3}$	0,171
Fuma- rase	7	150 - 160	155,7	5,5	1,924 $\cdot 10^{-3}$	0,798 $\cdot 10^{-3}$	0,432
	6	320 - 360	343,3	23,4	2,314 $\cdot 10^{-3}$	0,679 $\cdot 10^{-3}$	0,690
GOT	6	150 - 160	156,6	5,4	49,100 $\cdot 10^{-3}$	16,054 $\cdot 10^{-3}$	-0,558
	6	320 - 380	343,3	23,4	31,290 $\cdot 10^{-3}$	3,023 $\cdot 10^{-3}$	0,231
ICDH	3	150 - 160	156,6	6,0	2,272 $\cdot 10^{-3}$	1,154 $\cdot 10^{-3}$	0,215
	6	320 - 380	343,3	23,4	2,080 $\cdot 10^{-3}$	1,340 $\cdot 10^{-3}$	0,590

n = Fallzahl

g = Gramm

 $\bar{x}$ = Mittelwert der Rattengewichte $\bar{y}$ = Mittelwert der Enzymaktivität

s = Standardabweichung

r = Korrelationskoeffizient

- = Testergebnis negativ

Tabelle 6 Abhängigkeit der Aktivität einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus vom Gewicht bei nichtträchtigen Ratten mit 12 Stunden Nahrungskarenz

Enzym	Rattengewicht			Enzymaktivität		r	Tester- gebnis
	n	g	$\bar{x}$	$\pm s$	$\bar{y}$ (U/mg FG)	$(\pm s)$	
MDH	20	140-230	196,5	24,1	0,420	0,070	-
GLDH	20	140-230	196,5	24,1	$3,458 \cdot 10^{-3}$	$1,816 \cdot 10^{-3}$	-
Fuma- rase	20	140-230	196,5	24,1	$2,564 \cdot 10^{-3}$	$0,779 \cdot 10^{-3}$	-
GOT	20	140-230	196,5	24,1	$27,932 \cdot 10^{-3}$	$8,426 \cdot 10^{-3}$	-
ICDH	20	140-230	196,5	24,1	$0,711 \cdot 10^{-3}$	$0,571 \cdot 10^{-3}$	-

n = Fallzahl

g = Gramm

$\bar{x}$ = Mittelwert der Rattengewichte

$\bar{y}$ = Mittelwert der Enzymaktivität

- = Testergebnis negativ

s = Standardabweichung

r = Korrelationskoeffizient

Tabelle 7 Abhängigkeit der Aktivität einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus von der Dauer der Trächtigkeit (gemessen an der Foetenlänge in mm) bei Ratten mit 6 Stunden Nahrungsentzug

Enzym	n	Enzymaktivität		Foetenlänge		Gestations- dauer in Ta- gen/Stunden	r	Test- ergeb- nis
		$\bar{y}$ (U/mg FG)	$\pm s$	mm	$\bar{x}$ $\pm s$			
MDH	18	0,360	0,045	6-45	24,8 11,9	11/0 - 22/10	-0,245	-
GLDH	23	$3,986 \cdot 10^{-3}$	$1,460 \cdot 10^{-3}$	3-45	22,6 11,8	10/14 - 22/10	-0,335	-
Fuma- rase	24	$2,202 \cdot 10^{-3}$	$0,767 \cdot 10^{-3}$	3-45	23,4 12,1	10/14 - 22/10	-0,434	+
GOT	24	$28,824 \cdot 10^{-3}$	$9,389 \cdot 10^{-3}$	3-45	23,4 12,1	10/14 - 22/10	0,064	-
ICDH	23	$2,415 \cdot 10^{-3}$	$0,954 \cdot 10^{-3}$	3-45	24,1 11,7	10/14 - 22/10	-0,066	-

n = Fallzahl
 mm = Foetenlänge in mm
 $\bar{x}$ = Mittelwert der Foetenlänge
 $\bar{y}$ = Mittelwert der Enzymaktivität
 r = Korrelationskoeffizient
 - = Testergebnis negativ
 + = 5% Niveau = statistisch auffällig
 s = Standardabweichung

Tabelle 8 Abhängigkeit der Aktivität einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus von der Dauer der Trächtigkeit (Gemessen an der Foetenlänge in mm) bei Ratten mit 12 Stunden Nahrungsentzug

Enzym	n	Enzymaktivität		Foetenlänge		Gestations- dauer in Ta- gen/Stunden	r	Tester- gebnis
		$\bar{y}$ (U/mg FG)	$\pm s$	mm	$\bar{x}$ $\pm s$			
MDH	12	0,433	0,072	24-47	36,9 7,8	17/4 - 22/14	0,444	-
GLDH	12	3,442 $\cdot 10^{-3}$	1,287 $\cdot 10^{-3}$	24-47	36,9 7,8	17/4 - 22/14	0,123	-
Fuma- rase	12	2,552 $\cdot 10^{-3}$	1,100 $\cdot 10^{-3}$	24-47	36,9 7,8	17/4 - 22/14	-0,199	-
GOT	12	37,450 $\cdot 10^{-3}$	16,000 $\cdot 10^{-3}$	24-47	36,9 7,8	17/4 - 22/14	0,552	-
ICDH	12	1,580 $\cdot 10^{-3}$	0,656 $\cdot 10^{-3}$	24-47	36,9 7,8	17/4 - 22/14	-0,156	-

n = Fallzahl
 $\bar{y}$ = Foetenlänge in mm
 $\bar{x}$ = Mittelwert der Foetenlänge
 s = Testergebnis negativ
 $\bar{y}$ = Mittelwert der Enzymaktivität
 r = Korrelationskoeffizient
 s = Standardabweichung

Die Ergebnisse der Korrelation zwischen Enzymaktivität und Foetenlänge (Dauer der Schwangerschaft) sind für Ratten, die 6 Stunden hungerten, in Tab. 7, die für 12 Stunden Nahrungskarenz in Tab. 8 zusammengefaßt.

Wie aus Tab. 7 und Abb. 6 zu entnehmen ist, besteht für die Fumarase im Lebergewebe trächtiger Ratten nach 6 Stunden Nahrungsentzug während der ganzen Gestation eine auffällige Enzymaktivitätsabnahme bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5 %.

Alle anderen Enzyme in den Tab. 7 und 8 zeigen keine Aktivitätsänderungen während der gesamten Gestation.

Die in Tab. 7 und 8 wiedergegebenen Mittelwerte der Enzymaktivitäten lassen die Gestationsdauer unberücksichtigt

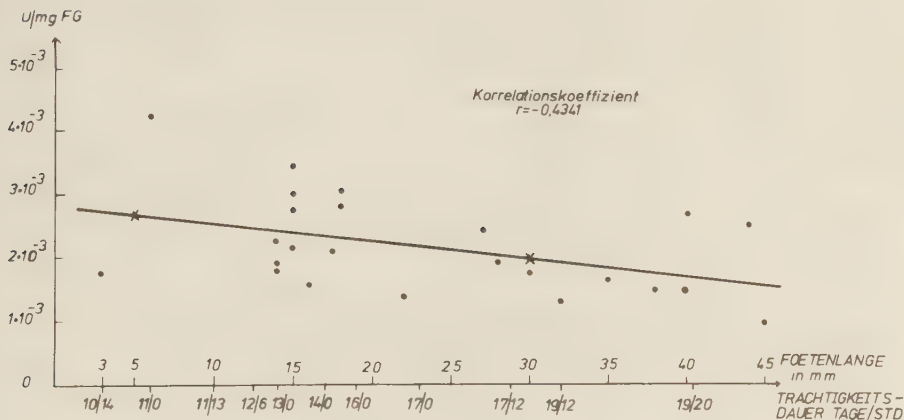


Abb. 6 Korrelation zwischen Fumarase-Aktivität und Foetenlänge von 3 - 45 mm bzw. Trächtigkeitsdauer bei Ratten mit 6 Stunden Nahrungskarenz
 $n = 24$
 $p = < 0,05$
 $a = 2,846 \cdot 10^{-3}$
 $b = -0,028 \cdot 10^{-3}$

und haben nur einen Aussagewert über die Enzymaktivität während der ganzen Trächtigkeitsdauer.

Wenn man nun die Gestation in einzelne Zeitabschnitte unterteilt, wobei die Kopf-Schwanz-Länge der Foeten ein annäherndes Maß für das Stadium der Gestation bietet (HAGEMANN (37)), so kann man eine gezielte Aussage machen, ob in einem bestimmten Zeitraum der Gestation eine Korrelation zwischen Enzymaktivität und Dauer der Trächtigkeit besteht.

Die Tab. 10 und die Abb. 7 und 8 zeigen, daß im Lebergewebe trächtiger Ratten nach 12 Stunden Nahrungskarenz eine statistisch auffällige Enzymaktivitätszunahme für

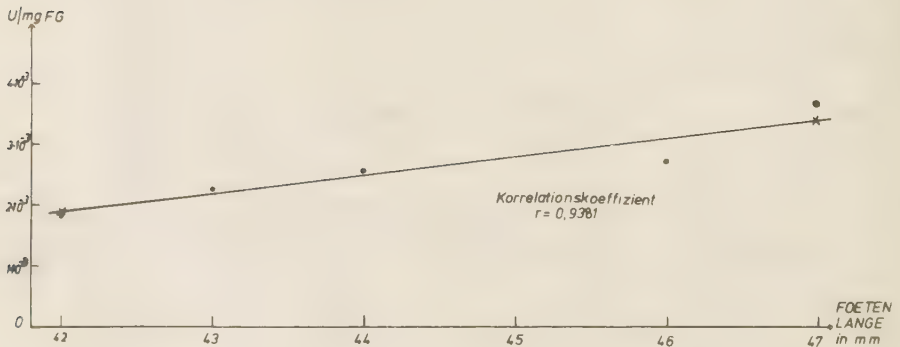


Abb. 7 Korrelation zwischen Fumarase-Aktivität und Foetenlänge von 42 - 47 mm (Gestationszeit zwischen 19. Tag 20 Stunden und 22. Tag und 14 Stunden) bei Ratten mit 12 Stunden Nahrungskarenz

$$n = 5$$

$$p = < 0,05$$

$$a = -10,819 \cdot 10^{-3}$$

$$b = 0,303 \cdot 10^{-3}$$

Tabelle 9 Abhängigkeit der Aktivität einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus von der Dauer der Trächtigkeit (Gemessen an der Foetenlänge in mm) bei Ratten mit 6 Stunden Nahrungskarenz, aufgeteilt in verschiedene Trächtigkeitsstadien

Enzym	n	Gestations- dauer in Ta- gen/Stunden	Foetenlänge mm	$\bar{x}$	$\pm s$	Enzymaktivität $\bar{y}$ (U/mg FG)	$\pm s$	r	Test- ergeb- nis
MDH	7	13/0 - 16/0	14-18	15,6	1,6	0,372	0,057	-0,547	-
	4	17/12 - 18/12	27-31	29,0	1,8	0,342	0,036	0,909	-
	4	19/14 - 19/19	35-40	38,3	2,4	0,341	0,036	-0,776	-
	5	19/14 - 22/10	35-45	39,6	3,6	0,352	0,039	0,155	-
GLDH	11	13/0 - 16/0	14-18	15,6	1,6	4,049 $\cdot 10^{-3}$	1,144 $\cdot 10^{-3}$	0,501	-
	4	17/12 - 18/12	27-31	29,0	1,8	4,081 $\cdot 10^{-3}$	1,571 $\cdot 10^{-3}$	-0,736	-
	5	19/14 - 22/10	35-45	40,4	4,2	3,054 $\cdot 10^{-3}$	1,288 $\cdot 10^{-3}$	0,658	-
Fuma- rase	11	13/0 - 16/0	14-18	15,6	1,6	2,456 $\cdot 10^{-3}$	0,599 $\cdot 10^{-3}$	0,274	-
	4	17/12 - 18/12	27-31	29,0	1,8	1,869 $\cdot 10^{-3}$	0,466 $\cdot 10^{-3}$	-0,960	-
	6	19/14 - 22/10	35-45	40,3	3,7	1,826 $\cdot 10^{-3}$	0,678 $\cdot 10^{-3}$	0,026	-
GOT	11	13/0 - 16/0	14-18	15,6	1,6	29,205 $\cdot 10^{-3}$	11,921 $\cdot 10^{-3}$	0,337	-
	4	17/12 - 18/12	27-31	29,0	1,8	26,490 $\cdot 10^{-3}$	4,865 $\cdot 10^{-3}$	-0,410	-
	4	19/14 - 19/19	35-40	38,3	2,4	28,348 $\cdot 10^{-3}$	3,405 $\cdot 10^{-3}$	-0,458	-
	6	19/14 - 22/10	35-45	40,3	3,7	27,773 $\cdot 10^{-3}$	4,398 $\cdot 10^{-3}$	-0,244	-
ICDH	11	13/0 - 16/0	14-18	15,6	1,6	2,631 $\cdot 10^{-3}$	0,808 $\cdot 10^{-3}$	-0,266	-
	4	17/12 - 18/12	27-31	29,0	1,8	2,191 $\cdot 10^{-3}$	0,928 $\cdot 10^{-3}$	-0,822	-
	4	19/14 - 19/19	35-40	38,3	2,4	1,695 $\cdot 10^{-3}$	0,185 $\cdot 10^{-3}$	-0,623	-
	6	19/14 - 22/10	35-45	40,3	3,7	2,214 $\cdot 10^{-3}$	1,213 $\cdot 10^{-3}$	0,476	-

n = Fallzahl
 $\bar{x}$ = Mittelwert der Foetenlänge
 $\bar{y}$ = Mittelwert der Enzymaktivität
 mm = Foetenlänge in mm
 r = Korrelationskoeffizient
 s = Standardabweichung
 - = Testergebnis negativ

Tab. 10 Abhängigkeit der Aktivität einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus von der Dauer der Trächtigkeit (gemessen an der Foetenlänge in mm) bei Ratten mit 12 Stunden Nahrungskarenz, aufgeteilt in verschiedene Trächtigkeitsstadien.

Enzym	n	Gestations- dauer in Tagen/Stunden	Foetenlänge		Enzymaktivität		r	Test- ergeb- nis
			mm	$\bar{x}$ $\pm$ s	$\bar{y}$ (U/mgF ₃)	$\pm$ s		
MDH	5	19/12 - 19/18	32 - 37	34,6	0,416	0,099	0,207	-
	5	19/20 - 22/14	42 - 47	44,4	0,466	0,037	0,130	-
GIDH	5	19/12 - 19/18	32 - 37	34,6	2,787 $\cdot 10^{-3}$	0,677 $\cdot 10^{-3}$	0,103	-
	5	19/20 - 22/14	42 - 47	44,4	3,909 $\cdot 10^{-3}$	1,298 $\cdot 10^{-3}$	0,001	-
Fuma- rase	5	19/12 - 19/18	32 - 37	34,6	1,956 $\cdot 10^{-3}$	0,483 $\cdot 10^{-3}$	-0,631	-
	5	19/20 - 22/14	42 - 47	44,4	2,648 $\cdot 10^{-3}$	0,671 $\cdot 10^{-3}$	0,938	+
GOT	5	19/12 - 19/18	32 - 37	34,6	34,978 $\cdot 10^{-3}$	17,694 $\cdot 10^{-3}$	0,406	-
	5	19/20 - 22/14	42 - 47	44,4	46,526 $\cdot 10^{-3}$	11,924 $\cdot 10^{-3}$	-0,915	+
ICDH	5	19/12 - 19/18	32 - 37	34,6	1,869 $\cdot 10^{-3}$	0,833 $\cdot 10^{-3}$	-0,070	-
	5	19/20 - 22/14	42 - 47	44,4	1,327 $\cdot 10^{-3}$	0,509 $\cdot 10^{-3}$	0,502	-

n = Fallzahl
mm = Foetenlänge in mm
s = Standardabweichung
 $\bar{x}$ = Mittelwert der Foetenlänge
 $\bar{y}$ = Mittelwert der Enzymaktivität
r = Korrelationskoeffizient
- = Testergebnis negativ
+ = 5 % Niveau = statistisch auffällig

Fumarase bei einer Foetenlänge von 42 - 47 mm und eine statistisch auffällige Enzymaktivitätsabnahme für GOT ebenfalls bei einer Foetenlänge von 42 - 47 mm besteht. Die Irrtumswahrscheinlichkeit beträgt sowohl für Fumarase als auch für GOT weniger als 5 %.

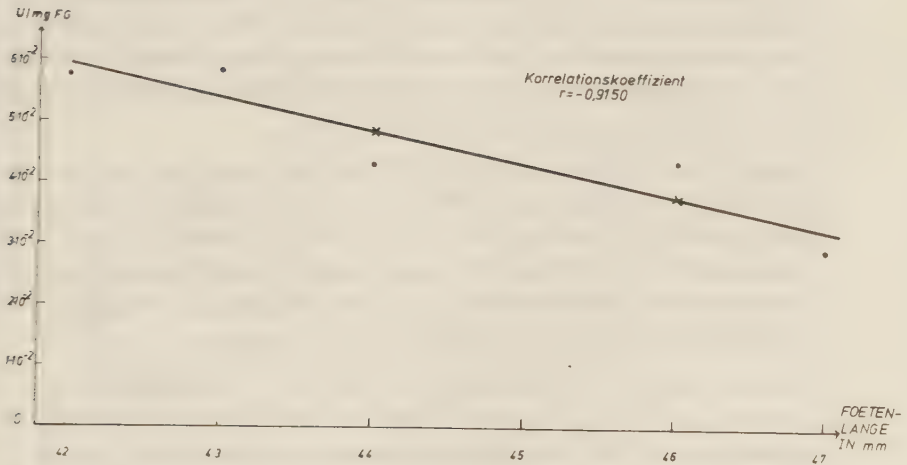


Abb. 8 Korrelation zwischen GOT-Aktivität und Foetenlänge von 42 - 47 mm (Gestationszeit zwischen 19. Tag 20 Stunden und 22. Tag und 14 Stunden) bei Ratten mit 12 Stunden Nahrungskarenz

$$\begin{aligned} n &= 5 & a &= 280,176 \cdot 10^{-2} \\ p &< 0,05 & b &= -5,262 \cdot 10^{-2} \end{aligned}$$

Die Korrelationskoeffizienten der anderen untersuchten Enzyme liegen jedoch deutlich unter der unteren Signifikanzgrenze und erlauben keine Aussage über den Zusammenhang zwischen Enzymaktivität und dem Alter der Gestation.

Wie aus Tab. 9 zu entnehmen ist, besteht im Lebergewebe trächtiger Ratten nach 6 Stunden Nahrungskarenz keine Enzymaktivitätsänderung in einem bestimmten Zeitraum der Gestation.

Lediglich der Korrelationskoeffizient für MDH bei einer Foetenlänge von 27-31 mm liegt knapp unter der signifikanten Korrelation, was auf die sehr geringe Fallzahl zurückgeführt werden kann.

Die Enzymaktivitäten von MDH, GlDH, Fumarase, GOT und ICDH im Lebergewebe nichtträchtiger Tiere mit 6stündiger Nahrungskarenz wurde den gefundenen Aktivitäten im Lebergewebe trächtiger Ratten mit verschiedener Trächtigkeitsdauer, die ebenfalls einen 6stündigen Nahrungsentzug hatten, in Tab. 11 und 11a gegenübergestellt.

Wegen einer zu großen Fallzahldifferenz zwischen nicht-trächtigen Tieren und trächtigen Ratten wurde bei den Normaltieren eine Auslese mit Hilfe der Zufallstafel (81) vorgenommen. Die Frage, ob eine signifikante Enzymaktivitätsänderung zwischen den beiden Rattengruppen vorliegt, wurde mit Hilfe des Wilcoxon-Tests beantwortet.

Wie aus Tab. 11 und den Abb. 9, 10 und 11 zu ersehen ist, besteht für MDH eine statistisch auffällige Aktivitätszunahme bei trächtigen Ratten mit einer Foetenlänge von 14 - 18 mm (13. - 16. Tag trächtig) und 27 - 31 mm (trächtig vom 17. Tag 12 Stunden bis 18. Tag 12 Stunden) gegenüber den nichtträchtigen Tieren bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5 %. Für trächtige Ratten mit einer Foetenlänge von 35 - 45 mm (trächtig vom 19. Tag 14 Stunden bis 22. Tag 10 Stunden) ergibt sich sogar eine signifikante Enzymaktivitätszunahme gegenüber den Normaltieren mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 1 %. Die Muttertiere mit einer Foetenlänge von 35 - 40 mm (trächtig vom 19. Tag 14 Stunden bis 19. Tag 19 Stunden) hingegen liegen nur knapp unter der unteren Signifikanzgrenze.

Tab. 11 Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus in der Leber trächtiger Ratten in verschiedenen Trächtigkeitsstadien (gemessen an der Foetenlänge in mm) und nichtträchtigen Tieren bei 6 Stunden Nahrungskarenz (Datenbeschreibung)

Enzym	n	trächtige Tiere			nichtträchtige Tiere		
		Gestationsdauer in Tagen/Stunden	Foetenlänge in mm	$\bar{x}$ (U/mg FG) $\pm s$	n	$\bar{x}$ (U/mg FG) $\pm s$	Enzymaktivität $\pm s$
MDH	7	13/0 - 16/0	14-18	0,372	7	0,269	$\pm 0,045$
	4	17/12 - 18/12	27-31	0,342	4	0,256	$\pm 0,035$
	4	19/14 - 19/19	35-40	0,341	4	0,247	$\pm 0,075$
	5	19/14 - 22/10	35-45	0,352	5	0,246	$\pm 0,013$
GLDH	11	13/0 - 16/0	14-18	4,049 $\cdot 10^{-3}$	11	4,958 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 1,131\cdot 10^{-3}$
	4	17/12 - 18/12	27-31	4,081 $\cdot 10^{-3}$	4	6,089 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 0,365\cdot 10^{-3}$
	5	19/14 - 22/10	35-45	3,054 $\cdot 10^{-3}$	5	4,908 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 1,120\cdot 10^{-3}$
Fumarase	11	13/0 - 16/0	14-18	2,456 $\cdot 10^{-3}$	11	2,179 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 0,787\cdot 10^{-3}$
	4	17/12 - 18/12	27-31	1,869 $\cdot 10^{-3}$	4	2,582 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 0,581\cdot 10^{-3}$
	6	19/14 - 22/10	35-45	1,826 $\cdot 10^{-3}$	6	1,825 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 0,677\cdot 10^{-3}$
GOT	11	13/0 - 16/0	14-18	29,205 $\cdot 10^{-3}$	11	45,025 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 22,323\cdot 10^{-3}$
	4	17/12 - 18/12	27-31	26,490 $\cdot 10^{-3}$	4	34,360 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 9,951\cdot 10^{-3}$
	4	19/14 - 19/19	35-40	28,348 $\cdot 10^{-3}$	4	37,915 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 18,006\cdot 10^{-3}$
	6	19/14 - 22/10	35-45	27,773 $\cdot 10^{-3}$	6	49,090 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 16,157\cdot 10^{-3}$
ICDH	11	13/0 - 16/0	14-18	2,631 $\cdot 10^{-3}$	10	2,026 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 1,200\cdot 10^{-3}$
	4	17/12 - 18/12	27-31	2,191 $\cdot 10^{-3}$	4	1,898 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 1,096\cdot 10^{-3}$
	4	19/14 - 19/19	35-40	1,695 $\cdot 10^{-3}$	4	2,370 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 0,906\cdot 10^{-3}$
	6	19/14 - 22/10	35-45	2,214 $\cdot 10^{-3}$	6	1,720 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 1,255\cdot 10^{-3}$

n = Fallzahl $\bar{x}$ = Mittelwert s = Standardabweichung

Tab. 11a Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus in der Leber trächtiger Ratten in verschiedenen Trächtigkeitsstadien (gemessen an der Foetenlänge in mm) und nichtträchtigen Tieren bei 6 Stunden Nahrungskarenz (Wilcoxon-Test)

Enzym	Erwartungswert (E)	Testgröße (c)	Testergebnis
MDH	52,5	21,5	+
	18,0	8,0	+
	18,0	6,0	-
	27,5	12,5	++
G1DH	126,5	26,5	-
	18,0	-5,0	-
	27,5	-12,5	+
Fuma- rase	126,5	12,5	-
	18,0	5,0	-
	39,0	9,0	-
GOT	126,5	39,5	++
	18,0	4,0	-
	18,0	-2,0	-
	39,0	14,0	+
ICDH	110,0	19,0	-
	18,0	1,0	-
	18,0	4,0	-
	39,0	8,0	-

- = Testergebnis negativ

+ = 5 % Niveau = statistisch auffällig

++ = 1 % Niveau = statistisch signifikant

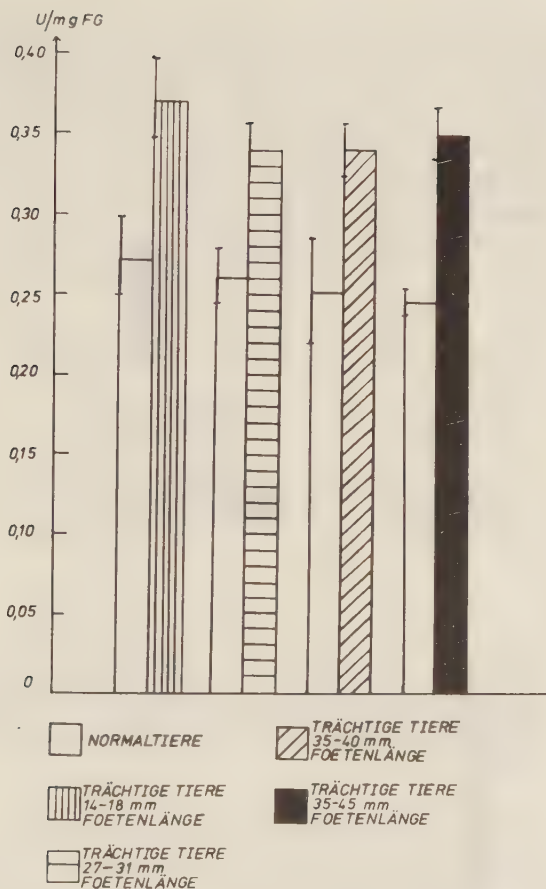


Abb. 9 Aktivitätsvergleich von MDH in der Leber trächtiger Ratten in verschiedenen Trächtigkeitsstadien (gemessen an der Foetenlänge in mm) und nichtträchtigen Tieren bei 6 Stunden Nahrungskarenz

Bei der G1DH besteht bei trächtigen Ratten mit einer Foetenlänge von 35 - 45 mm (trächtig vom 19. Tag 14 Stunden bis 22. Tag 10 Stunden) eine statistisch auffällige Aktivitätsabnahme gegenüber den nichtträchtigen Tieren bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5 %.

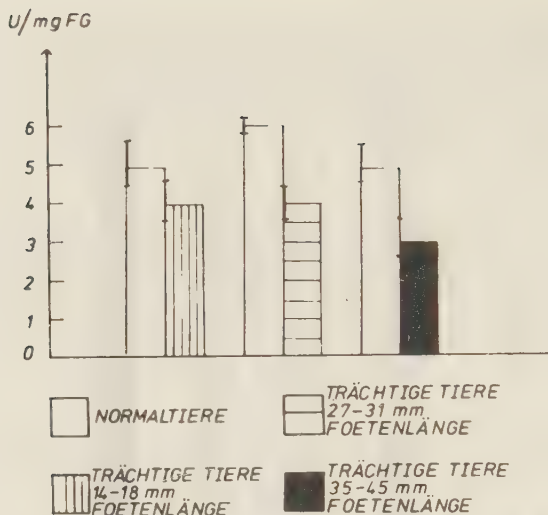


Abb. 10 Aktivitätsvergleich von G1DH in der Leber trächtiger Ratten in verschiedenen Trächtigkeitsstadien (gemessen an der Foetenlänge in mm) und nichtträchtigen Tieren bei 6 Stunden Nahrungskarenz

Keine signifikante Enzymaktivitätsänderung besteht für trächtige Tiere mit einer Foetenlänge von 14 - 18 mm (13. bis 16. Tag trächtig) und 27 - 31 mm (trächtig vom 17. Tag 12 Stunden bis 18. Tag 12 Stunden).

Die Fumarase zeigt bei allen Gruppenegegenüberstellungen zwischen trächtigen und nichtträchtigen Ratten keine Enzymaktivitätsänderung.

Die GOT zeigt bei einer Gestationsdauer von 14 - 18 mm Foetenlänge (13. bis 16. Tag trächtig) eine signifikante Aktivitätsabnahme bei weniger als 1 % Irrtumswahrscheinlichkeit gegenüber den Normaltieren und eine statistisch auffällige Herabsetzung der Aktivität bei einer Trächtig-

keitsdauer von 35 - 45 mm Foetenlänge (trächtig vom 19. Tag 14 Stunden bis 22. Tag 10 Stunden) bei weniger als 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit gegenüber nichtträchtigen Ratten. Ratten mit einer Foetenlänge von 27 - 31 mm (trächtig vom 17. Tag 12 Stunden bis 18. Tag 12 Stunden) und 35 - 45 mm (trächtig vom 19. Tag 14 Stunden bis 22. Tag 10 Stunden) zeigen gegenüber Normaltieren keine Enzymaktivitätsänderung.

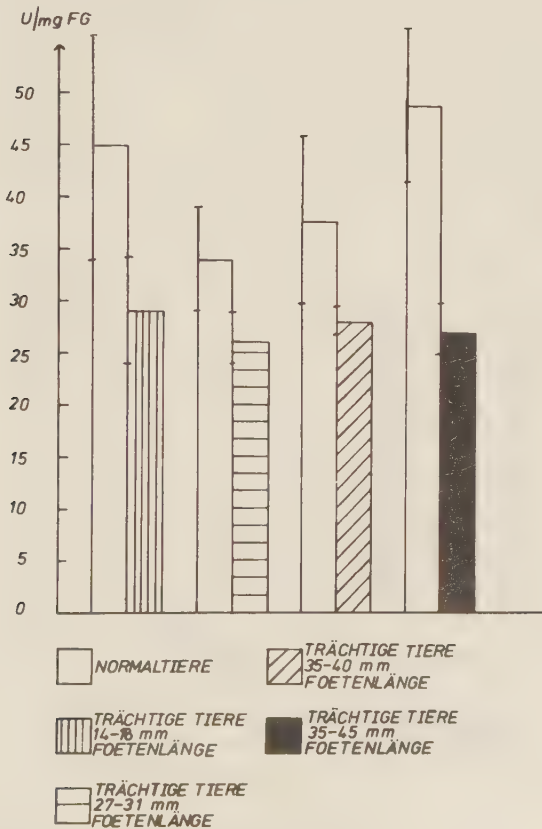


Abb. 11 Aktivitätsvergleich von GOT in der Leber trächtiger Ratten in verschiedenen Trächtigkeitsstadien (gemessen an der Foetenlänge in mm) und nichtträchtigen Tieren bei 6 Stunden Nahrungskarenz

Eine Aktivitätsänderung der ICDH zwischen Mutter- und Normaltieren bei den einzelnen Gruppen liegt deutlich unter der Signifikanzgrenze.

Ebenso wie bei Ratten mit 6-stündiger Nahrungskarenz stellten wir die gefundenen Aktivitäten der MDH, GlDH, Fumarase, GOT und ICDH aus dem Lebergewebe trächtiger Ratten mit ver-

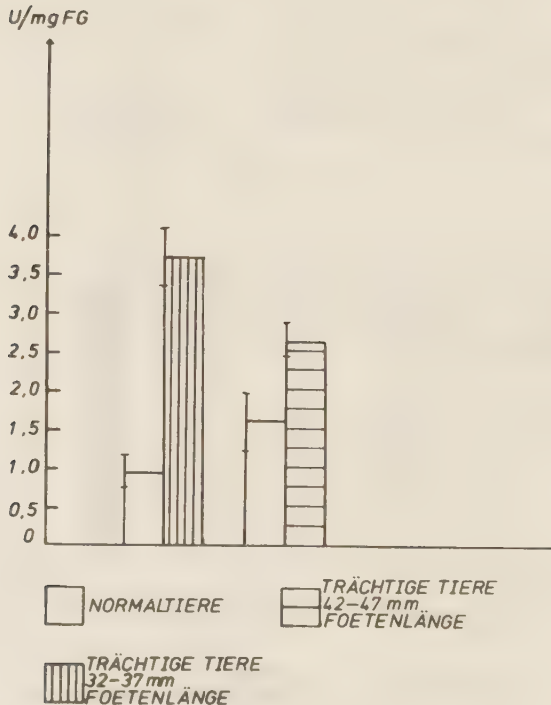


Abb. 12 Aktivitätsvergleich von ICDH in der Leber trächtiger Ratten in verschiedenen Trächtigkeitsstadien (gemessen an der Foetenlänge in mm) und nichtträchtigen Tieren bei 12 Stunden Nahrungskarenz

Tab. 12

Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus in der Leber trächtiger Ratten in verschiedenen Trächtigkeitsstadien (gemessen an der Foetenlänge in mm) und nichtträgige Tiere bei 12 Stunden Nahrungskarenz (Datenbeschreibung).

Enzym	n	Gestationsdauer in Tagen/Stunden	Foetenlänge in mm	trächtige Tiere $\bar{x}$ (U/mg FG)	Enzymaktivität (- s)	nichtträgige Tiere $\bar{x}$ (U/mg FG)	Enzymaktivität (- s)
MDH	5	19/12-19/18	32-37	0,416	$\pm 0,099$	5	0,456
	5	19/20-22/14	42-47	0,466	$\pm 0,037$	5	0,390
GLDH	5	19/12-19/18	32-37	2,787 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 0,677 \cdot 10^{-3}$	5	3,722 $\cdot 10^{-3}$
	5	19/20-22/14	42-47	3,909 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 1,298 \cdot 10^{-3}$	5	4,836 $\cdot 10^{-3}$
Fumase	5	19/12-19/18	32-37	1,955 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 0,482 \cdot 10^{-3}$	5	2,457 $\cdot 10^{-3}$
	5	19/20-22/14	42-47	2,647 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 0,670 \cdot 10^{-3}$	5	2,406 $\cdot 10^{-3}$
GOT	5	19/12-19/18	32-37	34,968 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 17,694 \cdot 10^{-3}$	5	31,088 $\cdot 10^{-3}$
	5	19/20-22/14	42-47	46,526 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 11,924 \cdot 10^{-3}$	5	34,450 $\cdot 10^{-3}$
ICDH	5	19/12-19/18	32-37	1,869 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 0,833 \cdot 10^{-3}$	5	0,486 $\cdot 10^{-3}$
	5	19/20-22/14	42-47	1,327 $\cdot 10^{-3}$	$\pm 0,509 \cdot 10^{-3}$	5	0,822 $\cdot 10^{-3}$

n = Fallzahl $\bar{x}$ = Mittelwert s = Standardabweichung

Tab. 12a Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tri-carbonsäurezyklus in der Leber trächtiger Ratten in verschiedenen Trächtigkeitsstadien (gemessen an der Foetenlänge in mm) und nicht-trächtigen Tieren bei 12 Stunden Nahrungskarenz (Wilcoxon-Test)

Enzym	Erwartungswert (E)	Testgröße (c)	Testergebnis
MDH	27,5	- 4,5	-
	27,5	- 8,5	-
G1DH	27,5	4,5	-
	27,5	5,5	-
Fuma- rase	27,5	6,5	-
	27,5	1,5	-
GOT	27,5	0,5	-
	27,5	7,5	-
ICDH	27,5	10,5	+
	27,5	7,5	-

- = Testergebnis negativ

+ = 5 % Niveau = statistisch auffällig

schiedenen Foetenlängen bei 12stündigem Nahrungsentzug den gewonnenen Aktivitäten weiblichen Normaltieren, ebenfalls bei 12stündiger Hungerdauer, in Tab. 12 und 12a gegenüber. Auch hier wurde wegen zu großer Fallzahldifferenz zwischen Mutter- und Normaltieren bei den nichtträchtigen Tieren eine Auslese mit Hilfe der Zufallstafel (81) vorgenommen. Mit dem Wilcoxon-Test wurde wieder geprüft, ob eine signifikante Enzymaktivitätsänderung vorliegt. Wie man aus Tab. 12a und der Abb. 12 ersehen kann, ergibt sich nur bei der ICDH eine signifikante Aktivitätszunahme für trächtige Ratten bei einer Foetenlänge von 32 - 37 mm (trächtig vom 19. Tag 12 Stunden bis 19. Tag 18 Stunden) gegenüber weiblichen nichtträchtigen Tieren bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5 %.

Alle anderen Gegenüberstellungen der untersuchten Enzyme im Lebergewebe zwischen trächtigen und nichtträchtigen Ratten ergaben keine Enzymaktivitätsänderungen.

Um festzustellen, ob zwischen den Gruppen mit verschiedener Gestationsdauer (Foetenlänge) eine signifikante Enzymaktivitätsänderung vorhanden ist, wurden die im Lebergewebe gefundenen Aktivitäten trächtiger Ratten, die 6 Stunden hungerten, mit dem Wilcoxon-Test gegeneinander geprüft und die Werte in Tab. 13 und 13a zusammengestellt.

Wie daraus zu ersehen ist, besteht nur eine auffällige Enzymaktivitätsänderung bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5 % für die Fumarase zwischen einer Trächtigkeitsdauer von 14 - 18 mm (13. bis 16. Tag trächtig) und 35 - 45 mm (trächtig vom 19. Tag 14 Stunden bis 22. Tag 10 Stunden) Foetenlänge, wobei ein signifikanter Aktivitätsabfall mit steigender Gestationsdauer zu verzeichnen ist und eine statistisch auffällige Aktivitätsänderung bei ebenfalls weniger als 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit für die ICDH zwischen einer Trächtigkeitsdauer von 14 - 18 mm (13. bis 16. Tag trächtig) und 35 - 45 mm Foetenlänge (trächtig vom 19. Tag 14 Stunden bis 22. Tag 10 Stunden). Auch hier ist eine Aktivitätsabnahme gegen

Tab. 13 Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tricarbon-säurezyklus in der Leber trächtiger Ratten in ver-schiedenen Trächtigkeitsstadien (gemessen an der Foetenlänge in mm) bei 6 Stunden Nahrungskarenz (Datenbeschreibung)

Enzym	n	Gestations-dauer in Tagen/Stunden	Foeten-länge in mm	Enzymaktivität $\bar{x}$ (U/mg FG)	$\pm s$
MDH	7	13/0 16/0	14 $\bar{z}$ 18	0,371	0,057
	4	17/12 $\bar{z}$ 18/12	27 $\bar{z}$ 31	0,341	0,036
	7	13/0 16/0	14 $\bar{z}$ 18	0,371	0,057
	4	19/14 $\bar{z}$ 19/19	35 $\bar{z}$ 40	0,341	0,036
	7	13/0 16/0	14 $\bar{z}$ 18	0,371	0,057
	5	19/14 $\bar{z}$ 22/10	35 $\bar{z}$ 45	0,353	0,039
	4	17/12 $\bar{z}$ 18/12	27 $\bar{z}$ 31	0,341	0,036
	4	19/14 $\bar{z}$ 19/19	35 $\bar{z}$ 40	0,341	0,036
	4	17/12 $\bar{z}$ 18/12	27 $\bar{z}$ 31	0,341	0,036
	5	19/14 $\bar{z}$ 22/10	35 $\bar{z}$ 45	0,352	0,039
G1DH	4	19/14 $\bar{z}$ 19/19	35 $\bar{z}$ 40	0,341	0,036
	4	17/12 $\bar{z}$ 18/12	27 $\bar{z}$ 31	0,341	0,036
	5	19/14 $\bar{z}$ 22/10	35 $\bar{z}$ 45	0,352	0,039
	11	13/0 16/0	14 $\bar{z}$ 18	4,049 $\cdot 10^{-3}$	1,144 $\cdot 10^{-3}$
	4	17/12 $\bar{z}$ 18/12	27 $\bar{z}$ 31	4,081 $\cdot 10^{-3}$	1,571 $\cdot 10^{-3}$
Fuma-rase	11	13/0 16/0	14 $\bar{z}$ 18	4,049 $\cdot 10^{-3}$	1,144 $\cdot 10^{-3}$
	5	19/14 $\bar{z}$ 19/19	35 $\bar{z}$ 40	3,053 $\cdot 10^{-3}$	1,288 $\cdot 10^{-3}$
	4	17/12 $\bar{z}$ 18/12	27 $\bar{z}$ 31	4,081 $\cdot 10^{-3}$	1,571 $\cdot 10^{-3}$
	5	19/14 $\bar{z}$ 22/10	35 $\bar{z}$ 45	3,053 $\cdot 10^{-3}$	1,288 $\cdot 10^{-3}$
	11	13/0 16/0	14 $\bar{z}$ 18	2,456 $\cdot 10^{-3}$	0,510 $\cdot 10^{-3}$
GOT	4	17/12 $\bar{z}$ 18/12	27 $\bar{z}$ 31	1,869 $\cdot 10^{-3}$	0,466 $\cdot 10^{-3}$
	11	13/0 16/0	14 $\bar{z}$ 18	2,456 $\cdot 10^{-3}$	0,510 $\cdot 10^{-3}$
	6	19/14 $\bar{z}$ 22/10	35 $\bar{z}$ 45	1,825 $\cdot 10^{-3}$	0,678 $\cdot 10^{-3}$
	4	17/12 $\bar{z}$ 18/12	27 $\bar{z}$ 31	1,869 $\cdot 10^{-3}$	0,466 $\cdot 10^{-3}$
	6	19/14 $\bar{z}$ 22/10	35 $\bar{z}$ 45	1,825 $\cdot 10^{-3}$	0,678 $\cdot 10^{-3}$
ICDH	11	13/0 16/0	14 $\bar{z}$ 18	29,20 $\cdot 10^{-3}$	11,92 $\cdot 10^{-3}$
	4	17/12 $\bar{z}$ 18/12	27 $\bar{z}$ 31	26,49 $\cdot 10^{-3}$	4,865 $\cdot 10^{-3}$
	11	13/0 16/0	14 $\bar{z}$ 18	29,20 $\cdot 10^{-3}$	11,92 $\cdot 10^{-3}$
	4	19/14 $\bar{z}$ 19/19	35 $\bar{z}$ 40	28,34 $\cdot 10^{-3}$	3,405 $\cdot 10^{-3}$
	11	13/0 16/0	14 $\bar{z}$ 18	29,20 $\cdot 10^{-3}$	11,92 $\cdot 10^{-3}$
	6	19/14 $\bar{z}$ 22/10	35 $\bar{z}$ 45	27,77 $\cdot 10^{-3}$	4,399 $\cdot 10^{-3}$
	4	17/12 $\bar{z}$ 18/12	27 $\bar{z}$ 31	26,49 $\cdot 10^{-3}$	4,865 $\cdot 10^{-3}$
	4	19/14 $\bar{z}$ 19/19	35 $\bar{z}$ 40	28,34 $\cdot 10^{-3}$	3,405 $\cdot 10^{-3}$
	4	17/12 $\bar{z}$ 18/12	27 $\bar{z}$ 31	26,49 $\cdot 10^{-3}$	4,865 $\cdot 10^{-3}$
	6	19/14 $\bar{z}$ 22/10	35 $\bar{z}$ 45	27,77 $\cdot 10^{-3}$	4,440 $\cdot 10^{-3}$
ICDH	4	19/14 $\bar{z}$ 19/19	35 $\bar{z}$ 40	28,34 $\cdot 10^{-3}$	3,405 $\cdot 10^{-3}$
	6	19/14 $\bar{z}$ 22/10	35 $\bar{z}$ 45	27,77 $\cdot 10^{-3}$	4,440 $\cdot 10^{-3}$
	11	13/0 16/0	14 $\bar{z}$ 18	2,630 $\cdot 10^{-3}$	0,808 $\cdot 10^{-3}$
	4	17/12 $\bar{z}$ 18/12	27 $\bar{z}$ 31	2,191 $\cdot 10^{-3}$	0,929 $\cdot 10^{-3}$
	11	13/0 16/0	14 $\bar{z}$ 18	2,630 $\cdot 10^{-3}$	0,808 $\cdot 10^{-3}$
	4	19/14 $\bar{z}$ 19/19	35 $\bar{z}$ 40	1,695 $\cdot 10^{-3}$	0,185 $\cdot 10^{-3}$
	11	13/0 16/0	14 $\bar{z}$ 18	2,630 $\cdot 10^{-3}$	0,808 $\cdot 10^{-3}$
	6	19/14 $\bar{z}$ 22/10	35 $\bar{z}$ 45	2,214 $\cdot 10^{-3}$	1,213 $\cdot 10^{-3}$
	4	17/12 $\bar{z}$ 18/12	27 $\bar{z}$ 31	2,191 $\cdot 10^{-3}$	0,929 $\cdot 10^{-3}$
	4	19/14 $\bar{z}$ 19/19	35 $\bar{z}$ 40	1,695 $\cdot 10^{-3}$	0,185 $\cdot 10^{-3}$
ICDH	4	17/12 $\bar{z}$ 18/12	27 $\bar{z}$ 31	2,191 $\cdot 10^{-3}$	0,929 $\cdot 10^{-3}$
	6	19/14 $\bar{z}$ 22/10	35 $\bar{z}$ 45	2,214 $\cdot 10^{-3}$	1,213 $\cdot 10^{-3}$
	4	19/14 $\bar{z}$ 19/19	35 $\bar{z}$ 40	1,695 $\cdot 10^{-3}$	0,185 $\cdot 10^{-3}$
	6	19/14 $\bar{z}$ 22/10	35 $\bar{z}$ 45	2,214 $\cdot 10^{-3}$	1,213 $\cdot 10^{-3}$
	4	19/14 $\bar{z}$ 19/19	35 $\bar{z}$ 40	1,695 $\cdot 10^{-3}$	0,185 $\cdot 10^{-3}$

n = Fallzahl $\bar{x}$ = Mittelwert s = Standardabweichung

Tab. 13a Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus in der Leber trächtiger Ratten in verschiedenen Trächtigkeitsstadien (gemessen an der Foetenlänge in mm) bei 6 Stunden Nahrungskarenz (Wilcoxon-Test)

Enzym	Erwartungswert (E)	Testgröße (c)	Testergebnis
MDH	24,0	4,0	-
	24,0	5,0	-
	32,5	3,5	-
	18,0	0,0	-
	20,0	2,0	-
	20,0	2,0	-
G1DH	32,0	2,0	-
	42,5	13,5	-
	20,0	7,0	-
Fumarase	32,0	12,0	-
	54,0	20,0	+
	22,0	1,0	-
GOT	22,0	- 3,0	-
	18,0	- 2,0	-
	39,0	8,0	-
	18,0	- 2,0	-
	22,0	- 1,0	-
	22,0	0,0	-
ICDH	32,0	7,0	-
	32,0	16,0	+
	54,0	14,0	-
	18,0	4,0	-
	22,0	3,0	-
	22,0	3,0	-

- = Testergebnis negativ

+ = 5 % Niveau = statistisch auffällig

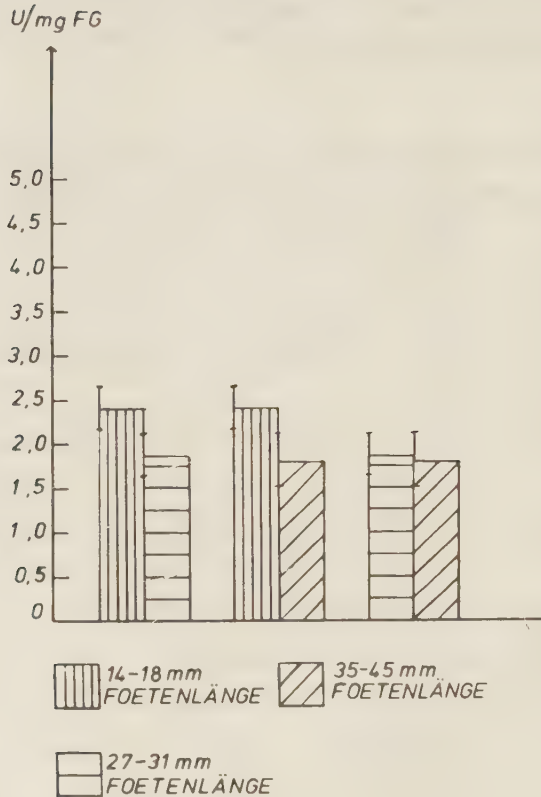


Abb. 13 Aktivitätsvergleich von Fumarase in der Leber trächtiger Ratten in verschiedenen Trächtigkeitsstadien (gemessen an der Foetenlänge in mm) bei 6 Stunden Nahrungskarenz

Ende der Gestation zu bemerken. Die unterste Signifikanzgrenze bei der ICDH zwischen einer Foetenlänge von 14 - 18 mm (13. bis 16. trächtig) und 35 - 45 mm (trächtig vom 19. Tag 14 Stunden bis 22. Tag 10 Stunden) liegt nur knapp über unserem erhaltenen Testergebnis. Bei allen anderen in Tab. 13 und 13a aufgeführten Enzymaktivi-

täten besteht keine Aktivitätsänderung zwischen den einzelnen Gruppen der trächtigen Ratten, was allerdings durch die geringe Fallzahl bedingt sein kann. Es ist nicht ausgeschlossen, daß man mit einer höheren Fallzahl eine signifikante Aktivitätsänderung der Enzyme erhalten kann.

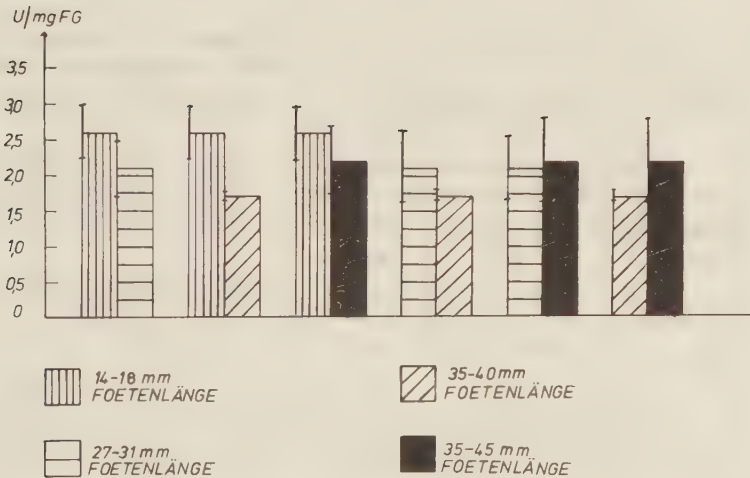


Abb. 14 Aktivitätsvergleich von ICDH in der Leber trächtiger Ratten in verschiedenen Trächtigkeitsstadien (gemessen an der Foetenlänge in mm) bei 6 Stunden Nahrungskarenz

Nach dem gleichen Verfahren wie in Tab. 13 wurden auch die trächtigen Ratten, die 12 Stunden Nahrungskarenz hatten, getestet.

Die Ergebnisse wurden in Tab. 14 und 14a zusammengefaßt. Daraus ist zu entnehmen, daß zwischen allen in Tab. 14 aufgeführten Enzymaktivitäten keine signifikante Aktivi-

Tab. 14 Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tri-carbonsäurezyklus in der Leber trächtiger Ratten in verschiedenen Trächtigkeitsstadien (gemessen an der Foetenlänge in mm) bei 12 Stunden Nahrungskarenz (Datenbeschreibung)

Enzym	n	Gestations- dauer in Ta- gen/Stunden	Foeten- länge in mm	Enzymaktivität	
				$\bar{x}$ (U/mgFG)	$\pm s$
MDH	5	19/12-19/18 zu	32-37 zu	0,416	0,099
	5	19/20-22/14	42-47	0,466	0,037
GLDM	5	19/12-19/18 zu	32-37 zu	$2,787 \cdot 10^{-3}$	$0,677 \cdot 10^{-3}$
	5	19/20-22/14	42-47	$3,909 \cdot 10^{-3}$	$1,298 \cdot 10^{-3}$
Fuma- rase	5	19/12-19/18 zu	32-37 zu	$1,955 \cdot 10^{-3}$	$0,482 \cdot 10^{-3}$
	5	19/20-22/14	42-47	$2,647 \cdot 10^{-3}$	$0,670 \cdot 10^{-3}$
GOT	5	19/12-19/18 zu	32-37 zu	$34,968 \cdot 10^{-3}$	$17,694 \cdot 10^{-3}$
	5	19/20-22/14	42-47	$46,526 \cdot 10^{-3}$	$11,924 \cdot 10^{-3}$
ICDM	5	19/12-19/18 zu	32-37 zu	$1,869 \cdot 10^{-3}$	$0,833 \cdot 10^{-3}$
	5	19/20-22/14	42-47	$1,327 \cdot 10^{-3}$	$0,509 \cdot 10^{-3}$

n = Fallzahl

s = Standardabweichung

$\bar{x}$ = Mittelwert

Tab. 14a Aktivitätsvergleich einiger Enzyme des Tri-carbonsäurezyklus in der Leber trächtiger Ratten in verschiedenen Trächtigkeitsstadien (gemessen an der Foetenlänge in mm) bei 12 Stunden Nahrungskarenz (Wilcoxon-Test)

Enzym	Erwartungs- wert (E)	Test- größe (c)	Tester- gebnis
MDH	27,5	- 3,5	-
GLDH	27,5	5,5	-
Fuma- rase	27,5	8,0	-
GOT	27,5	- 4,5	-
ICDH	27,5	4,5	-

- = Testergebnis negativ

täten, keine Aktivitätsänderung zwischen den einzelnen Gruppen der trächtigen Ratten besteht. Allerdings ist auch hier zu beachten, daß die Fallzahl sehr gering ist.

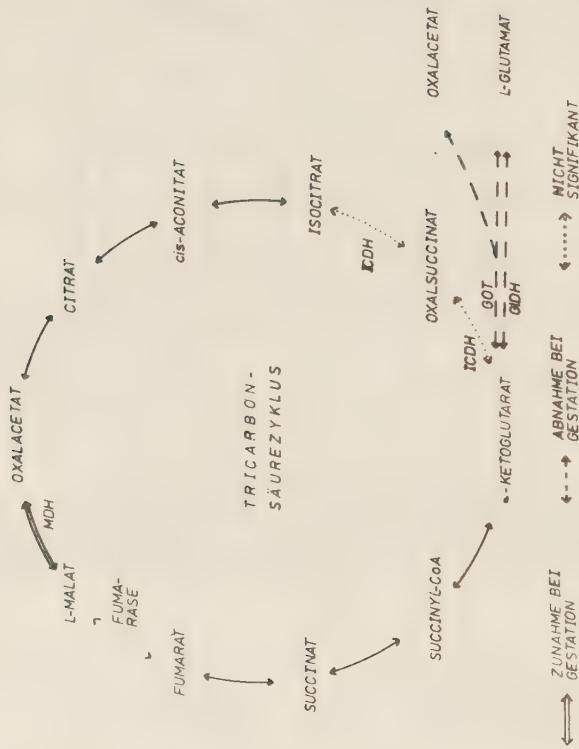


Abb. 15 Das Verhalten einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus im Lebergewebe während der Gestation. Aktivitätsänderungen beim Vergleich trächtiger und nichtträchtiger Ratten mit 6-stündiger Nahrungskarenz.

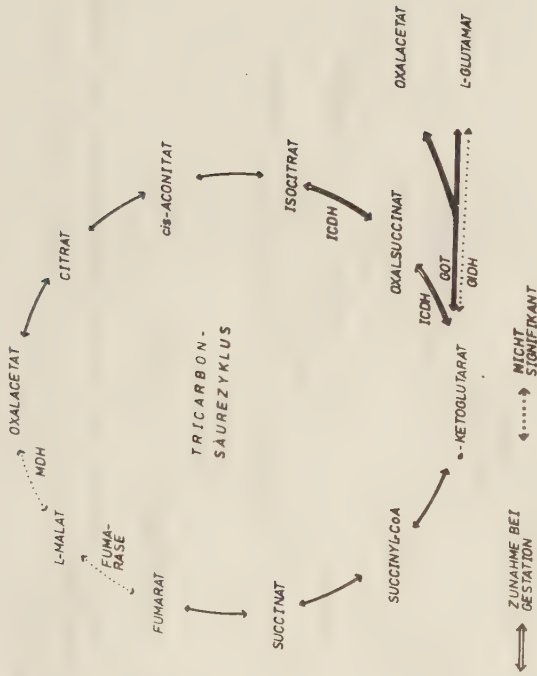


Abb. 16 Das Verhalten einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus im Lebergewebe während der Gestation. Aktivitätsänderungen beim Vergleich trächtiger und nichtträchtiger Ratten mit 12-stündiger Nahrungskarenz.



Abb. 17 Das Verhalten einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus im Lebergewebe während der Gestation. Aktivitätsänderungen bei nichtträchtigen Ratten nach 6- und 12-stündiger Nahrungskarenz.

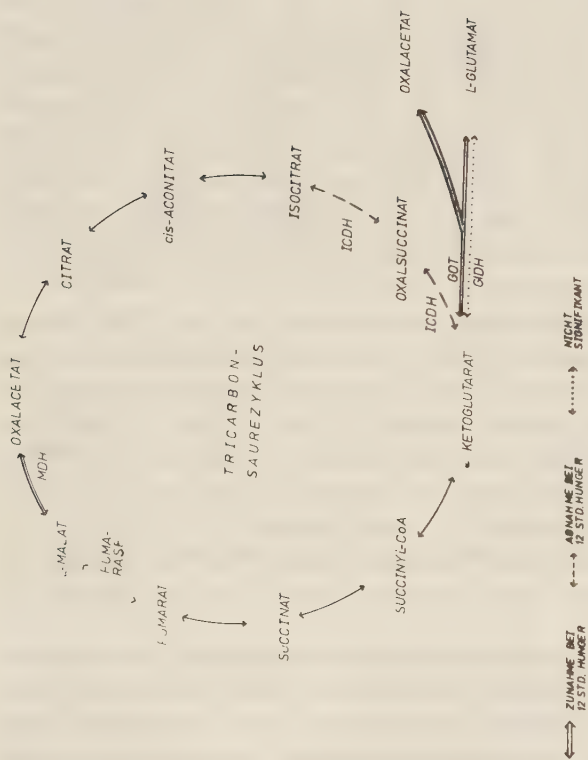


Abb. 18 Das Verhalten einiger Enzyme des Tricarbonsäurezyklus im Lebergewebe während der Gestation. Aktivitätsänderung bei trächtigen Ratten nach 6- und 12-stündiger Nahrungskarenz

IV. Besprechung der Ergebnisse

Bei der Aktivitätsbestimmung der Enzyme des Tricarbonsäurezyklus wurden in der Leber trächtiger Tiere im Vergleich zu den Normaltieren, beide Gruppen hatten einen 6stündigen Nahrungsentzug, für die MDH eine deutliche Aktivitätszunahme, für die GLDH und GOT eine Abnahme der Aktivität gefunden. Fumarase und ICDH zeigten keine Veränderungen. Während SCHMIDT und SCHMIDT (87) in der Leber von Diabetikern für MDH keine sichere Veränderungen finden konnten, wies BELFIORE und Mitarb. (3) eine Steigerung der MDH bei Diabetikern von mehr als 40 % nach. Diese MDH-Aktivitätszunahme kann mit der Zunahme der Gluconeogenese, die in der Leber des Diabetikers vorhanden ist, begründet werden. Die MDH katalysiert nämlich eine gleiche Reaktion im Tricarbonsäurezyklus wie auch im "dicarboxylic acid shuttle". Der metabolische Zyklus des "dicarboxylic acid shuttle" ist für die Gluconeogenese von grundsätzlicher Wichtigkeit und zwar deshalb, weil die Umwandlung des Phosphoenolpyruvat in Pyruvat leicht zustande kommt, während die inverse Reaktion dadurch erschwert wird, daß das Gleichgewicht des Systems die Pyruvatbildung begünstigt (RENOLD und Mitarb. (75)). Diese Schwierigkeit wird durch die "dicarboxylic acid shuttle" überwunden, indem das Pyruvat und Oxalacetat in Phosphoenolpyruvat verwandelt und auf diese Weise gegen die Glukosesynthese hingeleitet werden.

Die Umwandlung des Phosphoenolpyruvat in Pyruvat wird durch die Pyruvatkinase katalysiert. Nach Untersuchungen von SCHMIDT und SCHMIDT (87) fanden sich in der Leber von Diabetikern ein Aktivitätsanstieg der Pyruvatkinase. Auch im Lebergewebe trächtiger Ratten konnten RATHGEN und seine Mitarb. (74) eine Zunahme der Pyruvat-Kinase-Aktivität von rund 25 % nachweisen, wenn die Aktivität auf den Stickstoffgehalt des Homogenat-Überstandes bezogen wird.

Wenn man beachtet, daß auch die Hexokinase-Aktivität in der Diabetiker-Leber deutlich erhöht ist (SCHMIDT und SCHMIDT (87)), RATHGEN und Mitarb. fanden eine Hexokinase-Aktivitätserhöhung auch in der Leber trächtiger Ratten, so scheinen diese Ergebnisse doch darauf hinzuweisen, daß beim menschlichen Diabetes mellitus die Regulation, wenigsten bei sehr hohen Blutzucker-Werten, über die Glykolyse in der Leber noch eine Rolle spielt. Gegen eine solche Annahme spricht aber die deutliche Aktivitätsverminderung der Fructose-6-Phosphat-Kinase in der Diabetikerleber (SCHMIDT und SCHMIDT (87)). Es ist daher anzunehmen, daß dem gemeinsamen Aktivitätsanstieg von Pyruvatkinase und Hexokinase unterschiedliche Ziele des Substratflusses zugrunde liegen. Möglicherweise ist der bei Diabetikern vermehrte Kreislauf von C_3 -Verbindungen für einen Aktivitätsanstieg der Pyruvatkinase verantwortlich (CAHILL und Mitarb. (8, 9)).

Nach Untersuchungen von SCHMIDT und SCHMIDT (87) fand sich in der Diabetikerleber eine Aktivitätsabnahme der am Aminosäurestoffwechsel beteiligten Enzyme GldH und GOT. Diese Enzymaktivitäten liegen beim unbehandelten wie auch beim gut eingestellten Diabetiker etwas unter der Norm und steigen beim schlecht eingestellten Diabetes gering an. Dieses hat zur Folge, daß es zu einem deutlichen Unterschied der Aktivitäten von GldH und GOT kommt, obwohl die Veränderungen gegenüber der Norm nur gering sind.

Während die Diabetikerleber und die Leber bei trächtigen Ratten ähnliche GOT-Veränderungen zeigten, fanden COPENHAVER und Mitarb. (12) und HOHORST (46) in der Leber beim Alloxandiabetes eine deutliche GOT-Aktivitätszunahme; die MDH-Aktivität war auch hier vermehrt.

Der deutliche Aktivitätsanstieg der GOT beim Alloxandiabetes wird bei SCHMIDT und SCHMIDT (87) nur an dem Unterschied zwischen guter und schlechter Einstellung des Dia-

betes deutlich. Auch PATRICK und TULLOCH (69) fanden bei Enzymuntersuchungen am menschlichen Leberpunktat eine Abnahme der GOT-Aktivität bei Stabilisierung des Diabetes.

Der gemeinsame Anstieg der Aktivität von GOT mit Fructose-1,6-Diphosphatase (HOHORST) (46) und (MOKRASCH) (62) und Glucose-6-Phosphatase (ASHMORE (1, 2), FREEDLAND (28, 29, 30), HOHORST (46) und WEBER (104, 105)) beim Diabetes wie auch unter Cortison (BRIN) (7), GAVOSTO (34) und ROSEN (78), bei Hunger ((BRIN) (7) und (PATRICK (70)) und proteinreicher Kost (BOREL) (6) läßt sich als Ausdruck einer gesteigerten Gluconeogenese aus Aminosäuren deuten.

NOALI (65) fand, daß unter Cortison das Konzentrationsvermögen der Leber für Aminosäuren gesteigert ist und die Glutaminsäure eine hohe gluconeogenetische Potenz besitzt (SOSKIN und LEVINE (95)). Aufgrund dieser Untersuchung wäre der Unterschied der Aktivität von G1DH bei guter und schlechter Diabeteseinstellung zu erklären.

Während PATRICK und TULLOCH (70), EGELI und ALP (20) und WALLENFELS und Mitarb. (101) in der Diabetikerleber erhöhte Glucose-6-Phosphatase-Aktivitäten fanden, wies RATHGEN und Mitarb. (74) in der Leber trächtiger Ratten eine erhebliche Aktivitätsabnahme dieses Enzymes nach, das für die Dephosphorylierung der Glucose und damit für die Abgabe des Zuckers an die Peripherie verantwortlich ist.

Eine Übereinstimmung der GOT-Aktivitätssteigerung zwischen Alloxandibabetes und Ratten während der Gestation konnte bei trächtigen Tieren gefunden werden, die 12 Stunden Nahrungskarenz hatten. Bei diesen Tieren wurde auch eine Zunahme der Aktivität der ICDH nachgewiesen.

Betrachtet man die Enzymaktivität in der Leber während des Verlauf der Gestation bei Ratten mit 6 Stunden Nahrungsentzug, bezogen auf die Kopf-Schwanz-Länge der Föten, die ein angemessenes Maß für die Dauer der Trächtig-

keit darstellt, so ergibt sich für die Fumarase in der Leber mit zunehmendem Alter der Trächtigkeit eine signifikante Aktivitätsabnahme. Trotz dieser Abnahme zeigen die zusammengefaßten Werte aus allen Stadien der Trächtigkeit keine Veränderungen in bezug auf die Aktivität in der Leber nicht trächtiger Ratten. HARANO und Mitarb. (38) fanden in der Leber von diabetischen Ratten eine 100%-ige Zunahme der Fumarase-Aktivität. Lediglich bei trächtigen Tieren mit einer Foetenlänge von 42 - 47 mm (trächtig vom 19. Tag 12 Stunden bis 22. Tag 14 Stunden) und einer Nahrungskarenz von 12 Stunden zeigt sich eine Zunahme der Enzymaktivität.

Die Gegenüberstellung der Enzymaktivitäten von trächtigen Ratten in verschiedenen Gestationsstadien zeigt eine Zunahme der MDH-Aktivität bei trächtigen Tieren mit einer Foetenlänge von 14 - 18 mm (13. - 16. Tag trächtig), 27 - 31 mm (ca. 16 1/2 Tage trächtig) und 35 - 45 mm (ab 19. Tag der Trächtigkeit bis zum Ende). Diese Aussage stimmt auch mit den zusammengefaßten Werten aus allen Stadien der Gestation zusammen.

Die Aktivität der GOT ergab eine Abnahme bei trächtigen Tieren mit einer Foetenlänge von 14 - 18 mm (13. - 16. Tag trächtig) und 35 - 45 mm (ab 19. Tag der Trächtigkeit bis zum Ende), die der GLDH eine Abnahme der Aktivität bei 14 - 18 mm Foetenlänge (13.-16. Tag trächtig). Die zusammengefaßten Werte aus allen Stadien der Trächtigkeit ergaben ebenfalls eine Aktivitätsabnahme von GOT und GLDH.

Wie aus Untersuchungen von VILLEE (98), DOE (18) und YIELDING und TOMKINS (109, 110) hervorgeht, können sowohl Östrogene als auch Gestagene einen Einfluß auf die Aktivität verschiedener Enzyme ausüben. So ist bekannt, daß Progesteron die Aktivität der GLDH hemmt. Eingehende Untersuchungen der obengenannten Autoren nach dem Wirkungsmechanismus haben ergeben, daß Progesteron das Enzym wahr-

scheinlich in kleinere Bruchstücke zerlegt, die eine Alanindehydrogenase-Aktivität zu besitzen scheinen (YIELDING und TOMKINS (109, 110)).

Da während der Gestation die Gestagenbildung in erheblichem Maße zunimmt, kann ein Zusammenhang zwischen der herabgesetzten G1DH-Aktivität bei trächtigen Ratten mit einer Foetenlänge von 35 - 45 mm (ab 19. Tag der Trächtigkeit bis zum Ende) und Gestagenbildung nicht ausgeschlossen werden.

Mit Ausnahme der Fumarase scheint eine weitgehende Übereinstimmung des Enzymmusters der diabetischen Leber mit der Leber trächtiger Ratten zu bestehen. Es bieten sich aber auch ebenso deutliche Parallelen zu dem Aktivitätsmuster in der Leber hungernder Tiere. So zeigt der Vergleich von Enzymaktivitäten der MDH, G1DH und GOT bei nichtträchtigen Ratten, die 6 und 12 Stunden hungerten, eine Zunahme der MDH- und eine Abnahme der G1DH- und GOT-Aktivität bei 12 Stunden hungernden Ratten.

Die Steigerung der MDH-Aktivität bei den 12 Stunden fastenden Tieren spricht für eine verstärkte Gluconeogenese im Hunger. Bei Nahrungsentzug stellt nämlich die Leber von der Glycogenspeicherung auf Glucoseproduktion um. Hepatektomierte Tiere sterben in der Hypoglykämie, weil keine Glucose nachgebildet wird (FREHNER (31)).

Untersuchungen von v. OLDERSHAUSEN und Mitarb. (66) ergaben, daß unter eiweißfreier Diät die Aktivitäten derjenigen Enzyme, die Aminosäuren in Pyruvat überführen und damit für die Gluconeogenese bereitstellen, zu diesen Enzymen gehören auch die G1DH und GOT, in der Leber normaler Tiere stark absinken. Nach 38stündigem Hunger kommt es jedoch bei diesen Enzymen zu einem deutlichen Anstieg.

Während bei nichtträchtigen Ratten im Hungerzustand eine Abnahme der GOT- und G1DH-Aktivität gefunden wurde, war bei fastenden Tieren während der Gestation ein GOT-Akti-

vitätsanstieg zu verzeichnen. Ähnliches fand v. OLDERS-HAUSEN und Mitarb. (66) in der Leber fastender Alloxan-Diabetes-Ratten. Hier kam es zu einer erheblichen Aktivitätssteigerung von GOT. Dies besagt, daß trotz des hohen Glucosespiegels bei Insulinmangeldiabetes nach Alloxan weiterhin Glucose aus Eiweiß neugebildet wird.

Nach Untersuchungen von FITCH und CHAIKOFF (25) (26) kann angenommen werden, daß die Höhe der Enzymaktivität die Größe des Substratdurchsatzes durch den betreffenden Stoffwechselweg widerspiegelt. Diese Veränderungen betreffen nicht nur bestimmte Schlüsselenzyme, sondern erreichen ein weiteres Ausmaß (SCHMIDT und SCHMIDT (87)).

So fanden CAHILL und Mitarb. (8, 9), FELTS und Mitarb. (22) und GLOCK und Mitarb. (35), daß eine qualitative Korrelation zwischen Höhe der Enzymaktivität und dem Ausmaß des Substratflusses besteht. Sie zeigten, daß bei der deutlichen Abnahme der Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase und der 6-Phospho-Gluconat-Dehydrogenase bei Alloxand diabetes eine deutliche Herabsetzung des Durchsatzes und ein verminderter NADPH-Gehalt gefunden wurde. Durch Zusatz von Pyocyanin, das als Redox-Vermittler einen zusätzlichen Weg der NADP-Oxydation eröffnet, wurde sichergestellt, daß der Durchsatz nicht durch den verminderten Abfluß des NADPH gebremst wurde. Bei Diabetes wurde nur eine geringe Steigerung im Vergleich zur Norm gefunden.

Wir haben eine Zunahme der Malat-Dehydrogenase-Aktivität in der Leber hungernder und trächtiger Ratten festgestellt. ROSSKOPF (80) fand einen Anstieg des Malatspiegels in der Leber hungernder sowie auch schwangerer Ratten.

Da es sowohl während der Gestation als auch im Hungerzustand zu einer vermehrten Gluconeogenese in der Leber kommt, kann der Anstieg von Malat und der Malat-Dehydrogenase-Aktivität als physiologische Reaktion angesehen werden.

Nach unseren Untersuchungen kann man sagen, daß die Enzymveränderungen in der Leber im Hinblick auf den Tricarbonsäurezyklus eine weitgehende Übereinstimmung sowohl beim Diabetes als auch während der Trächtigkeit bei Ratten zeigen.

In beiden Situationen fanden wir eine Erhöhung der Malat-Dehydrogenase-Aktivität und eine Enzymaktivitätsabnahme der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und der Glutamat-Dehydrogenase.

Die Fumarase zeigt eine Übereinstimmung mit der Aktivität bei den diabetischen Lebern gegen Ende der Gestation und bei 12 Stunden Nahrungsentzug.

Lediglich bei der ICDH fanden wir eine Aktivitätsabnahme in der Leber hungernder Ratten gegenüber den Normaltieren. Auch die Aktivitätsbestimmungen der Enzyme des Emden Meyerhof-Weges boten mit Ausnahme der Glucose-6-Phosphatase eine weitgehende Übereinstimmung der Enzymaktivitätsmuster der diabetischen Leber mit der Leber trächtiger Tiere (RATHGEN (74)).

Da aber andere Autoren (GLOCK und McLEAN (35, 36), TEPPER-MANN (97), LEE und Mitarb. (59) und KNOCHE und HARTMANN (55) auch Parallelen zu dem Aktivitätsmuster in der Leber hungernder Tiere fanden, ist eine entgültige Aussage aufgrund dieser Arbeit nicht gegeben.

Es muß vor allem noch geklärt werden, ob die Veränderungen der Aktivität der Enzyme des Emden-Meyerhof-Weges bei Diabetes nicht unmittelbar Insulin-bedingt, sondern Ausdruck einer Adaptation an das jeweilige Substratangebot sind (FITCH, HILL und CHAIKOFF (26)) und welchen Einfluß die Hormone während der Gestation auf die Enzyme des Tricarbonsäurezyklus haben.

V. Zusammenfassung

In der Leber trächtiger Ratten mit 6 Stunden Nahrungskarenz findet sich eine statistisch auffällige Aktivitätsabnahme der Glutamat-Dehydrogenase und eine signifikante Aktivitätsabnahme bei der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase.

Eine signifikante Aktivitätssteigerung zeigte die Malat-Dehydrogenase. Isocitrat-Dehydrogenase und Fumarase haben im Vergleich mit den Normaltieren unveränderte Aktivitäten.

Bei 12 Stunden hungernden trächtigen Ratten ist eine statistisch auffällige Zunahme der Aktivität von Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und eine signifikante Aktivitätszunahme der Isocitrat-Dehydrogenase in der Leber festzustellen. Hingegen zeigen Malat-Dehydrogenase, Glutamat-Dehydrogenase und Fumarase keine Aktivitätsänderungen im Vergleich zu den Normaltieren.

Bei dem Aktivitätsvergleich von nichtträchtigen Ratten mit 6 und 12 Stunden Nahrungsentzug kann man in der Leber von 12 Stunden hungernden Ratten eine signifikante Aktivitätszunahme der Malat-Dehydrogenase und eine signifikante Aktivitätsabnahme der Glutamat-Dehydrogenase, der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und der Isocitrat-Dehydrogenase nachweisen. Die Fumarase zeigt keine veränderte Aktivität.

Bei trächtigen Ratten mit 6 und 12 Stunden Nahrungsentzug ist in der Leber von Ratten mit 12 Stunden Nahrungsentzug eine signifikante Aktivitätszunahme der Malat-Dehydrogenase und eine statistisch auffällige Zunahme der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und eine statistisch auffällige Aktivitätsabnahme der Isocitrat-Dehydrogenase vorhanden.

Die Fumarase zeigt in der Leber trächtiger Ratten mit 6 Stunden Nahrungsentzug eine statistisch auffällige Akti-

vitätsabnahme mit zunehmendem Alter der Schwangerschaft. Ebenfalls mit zunehmendem Alter der Gestation zeigt auch die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase eine signifikante Aktivitätsabnahme in der Leber trächtiger Ratten bei 12-stündigem Nahrungsentzug und zwar in der Schwangerschaftsphase, in der die Foeten eine Länge von 42-47 mm (ab 19. Tag der Trächtigkeit bis zum Ende) haben. Für die Fumarase kann man bei den gleichen Ratten und der gleichen Schwangerschaftsphase eine statistisch auffällige Zunahme der Aktivität mit zunehmender Trächtigkeitsdauer feststellen.

Bei den Aktivitätsvergleichen zwischen trächtigen Ratten in den verschiedenen Trächtigkeitsstadien mit den Normaltieren bei 6 Stunden Nahrungskarenz konnte in der Leber trächtiger Ratten mit einer Foetenlänge von 14-18 mm (13.-16. Tag trächtig) und 27-31 mm (ca. 17 1/2 Tage trächtig) eine statistisch auffällige und bei trächtigen Ratten mit einer Foetenlänge von 35-45 mm (ab 19. Tag der Trächtigkeit bis zum Ende) eine signifikante Aktivitätszunahme der Malat-Dehydrogenase nachgewiesen werden. Glutamat-Dehydrogenase zeigt bei trächtigen Ratten mit einer Foetenlänge von 35-45 mm (ab 19. Tag der Trächtigkeit bis zum Ende) eine statistisch auffällige Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, bei trächtigen Ratten mit einer Foetenlänge von 14-18 mm (13.-16. Tag trächtig) eine signifikante und bei trächtigen Ratten mit 35-45 mm Foetenlänge (ab 19. Tag der Trächtigkeit bis zum Ende) eine statistisch auffällige Aktivitätsabnahme.

Bei den Aktivitätsvergleichen der Enzyme zwischen trächtigen Ratten in verschiedenen Trächtigkeitsstadien und Normaltieren bei 12 Stunden Nahrungsentzug zeigte nur die Isocitrat-Dehydrogenase eine Zunahme der Aktivität bei trächtigen Ratten mit einer Foetenlänge von 32-37 mm (19. Tag 12 Stunden bis 19. Tag 18 Stunden trächtig).

Literaturverzeichnis

- (1) Ashmore, J., A.B. Hastings, F.B. Nesbett:
Effect of diabetes on liver glucose-6-phosphatase.
Proc.nat.Acad.Sci. (Wash.) 40, (1954) 673-678
- (2) --- A.E. Renold:
Studies on carbohydrate metabolism in rat liver slices.
VI. Hormonal factors influencing glucose-6-phosphatase.
J.biol.Chem. 218 (1956) 77-88
- (3) Belfiore, F., F. Romeo, L. Lo Vecchio, E. Napoli:
Alcune attivita enzimatiche del ciclo dell'acido
citrico (Malico-ed Isocitrico-Deidrogenasi) nel fegato
do soggetti normali. Boll.Soc.It.Biol.Sper. 45, (1969)
82-85
- (4) Bergmeyer, H.U.: Methods of encymatice analysis
Weinheim, BergstraÙe, New York, London 1963
- (5) Bernard, C.:
Nouvelle fouction du fois. Paris: Baillière 1853
- (6) Borel, Cl., H. Ryser, J. Frei:
L'élévation de deux transaminases hepaticues considérée
du rat au régime carné. J.Suisse Med. 88, (1958) 135-
137
- (7) Brin, M., R.W. McKee:
Effects of x-irradiation, nitrogen mustard, fasting,
cortisone and adrenalectomy on transaminases activity
in the rat. Arch. Biochem. 61, (1956) 384-389
- (8) Cahill, G.F., J. Ashmore, A.E. Renold, A.B. Hastings:
Blood glucose and the liver. Amer.J.Med. 26, (1959)
264-282
- (9) Cahill, G.F., A.B. Hastings, J. Ashmore und S. Zottu:
Studies on carbohydrate metabolism in rat liver slices.
X. Factors in the regulation of pathways of glucose
metabolism. J. biol. Chem. 230 (1958) 125-135

- (10) Cavalli, L., Sforza:
Grundbegriffe der Biometrie, Stuttgart 1964
- (11) Colowick, S.P. Kaplan, N.O.:
Methods in Enzymatology, Volume XIII, Citric Acid
Cycle, New York 1955
- (12) Copenhaver, J.H., E.G. Shipley, R.K. Meyer:
Enzymes in tissues of alloxan diabetic rats.
Arch.Biochem. 34, (1951) 360-371
- (13) Csömör, S.J., Dömötöri, M. Paal, M. Szinnyai:
Neue Angaben zur Diagnose der Übertragung. Zentral-
blatt für Gynäkologie 52, (1963) 1866
- (14) Dacic, Z.:
Serum-Enzym-Untersuchungen zur Frage der Leberschädi-
gung durch orale Ovulationshemmer.
Die med. Welt 2, (1966) 108-110
- (15) Diczfalussy, E., Ch. Lauritz:
Östrogene beim Menschen. Berlin - Göttingen - Heidel-
berg, 1961, S. 110 u. 187
- (16) Diétel, H.:
Das Bild der Leber in der Schwangerschaft.
Zschr.Geburtsh.Gyn. 128, (1947) 127-161
- (17) Ditschuneit, H. J.D. Faulhaber, L. Beil, E.F. Pfeiffer:
Veränderungen des Stoffwechsels bei Null-Diät.
Internist 11, (1970) 176-183
- (18) Doe, R.P. et al.:
Estrogen dosage effects on serum proteins. A longitud-
inal study. J.clin.Endocr. 27 (1967) 1081-1086
- (19) Eckstein, B., R. Landsberg: Effect of serum gonado-
trophin on dehydrogenases of the citric acid cycle in
the ovary of the rat. Acta Endocrinologica 42, (1963)
480-484
- (20) Egeli, E.S., H. Alp:
Die Glucose-6-phosphatase-Aktivität der Leber bei nor-
malen Menschen und bei Diabetikern.
Z.klin.Med. 155 (1958) 191-194

- (21) Eisalo, A., A. Konttinen, O. Hietala:
Oval contraception after liver disease.
Brit. Med. J. 5774 (1971/III) 561-562
- (22) Felts, J.M., R.G. Doell, I.L. Chaikoff:
The effect of insulin on the pathway of conversion
of glucose to fatty acids in the liver.
J.biol.Chem. 219 (1956) 473-478
- (23) Fischer, F.X., L. Adler-Kastner, B. Plank, G. Nell,
O. Kraupp:
The influence of chronic alloxan diabetes on the
myocardial concentration of tricarboxylic acid cycle
intermediates and of aspartate and glutamate in
starved and fed rats. Naunyn-Schniedebergs Arch. exp.
Path. Pharmacol. 266, (1970) 322-323
- (24) Fisher, R.A.:
Statistical methods for research.
Workers 12th ed. Edinburgh 1954
- (25) Fitch, W.M., R. Hill, I.L. Chaikoff:
Hepatic glycolytic enzyme activities in the alloxan
diabetic. Rat: response to glucose and fructose feed-
ing. J.biol.Chem. 234, (1959) 2811-2813
- (26) - I.L. Chaikoff:
Extent and pattern of adaption of enzyme activities
in liver of normal rats, fat diets high in glucose
and fructose. J. biol.Chem. 235, (1960) 554-557
- (27) Frankhauser, S.: Diabetes und Schwangerschaft.
Therapie-Umschau, 28, (1967) 335-340
- (28) Freedland, R.A., A.E. Harper:
Metabolic adaption in higher animals. 1. Dietary
effects on liver glucose-6-phosphatase.
J.biol.Chem. 228, (1957) 743-751
- (29) --: Metabolic adaption in higher animals. 2. Changes
with time in the adaption response of glucose-6-
phosphatase. J.Biol.Chem. 230, (1958) 833-841

- (30) -- Metabolic adaption in higher animals. 3. Quantitative study of dietary factors causing response in liver glucose-6-phosphatase. J.biol.Chem. 233, (1958) 1-4
- (31) Frehner, H.U.:
Diabetes-Fibel für Ärzte und Studierende. Stuttgart 1972
- (32) Friedberg, V.:
Die Leberfunktion in der Schwangerschaft.
Acta hepato-splenol. 7, (1960) 214-229
- (33) - Physiologische Veränderungen des Gesamtorganismus.
In: Gynäkologie und Geburtshilfe (O. Käser, V. Friedberg, K.G. Ober, K. Thomsen, J. Zander), Bd. II.
Stuttgart 1967
- (34) Gavosto, F., A. Pileri, A. Bruska:
Increased transaminase activity in the liver after administration of cortisone. Biochim. biophys. Acta (Amst.) 24, (1957) 250 - 254
- (35) Glock, G.E., P. McLean:
A Preliminary Investigation of the Hormonal Control of the Hexose Monophosphat Oxidation Pathway. Biochem. J. 61, (1955) 390-397
- (36) --, J.K. Whitehead:
Pathways of glucose catabolism in rat liver in alloxand diabetes and hyperthyreoidism. Biochem. J. 63, (1960) 520-524
- (37) Hagemann, E., G. Schmidt:
Ratte und Maus. Berlin 1960
- (38) Harano, Y., R.G. De Palma, M. Miller:
Fatty acid oxidation, citric acid cycle activity, and morphology of mitochondria in diabetic rat liver.
Proc. soc. exp. Biol. Med. 131, (1969) 913-917
- (39) Heising, N.:
Diabetes mellitus und Schwangerschaft in der Sicht des Internisten. Med.Klin. 65, (1970) 682-687

- (40) Heller, H.:
Plasmaenzymaktivitäten bei ambulant kontrollierten Diabetikern als Hinweis für eine Leberparenchymschädigung. Dtsch. Ges.wesen 26, H 7 (1971) 292-296
- (41) Heller, H., E. Canzler: Hat die Behandlung mit dem oralen Kontrazeptivum Ovoston in niedriger Dosierung einen Einfluß auf Glucosetoleranz und Leberfunktion? Zschr.inn.Med. 25, (1970) 936-940
- (42) Henneberg, M.:
In: Ratte und Maus (E. Hagemann, G. Schmidt)
- (43) Hess, B.:
Enzyme im Blutplasma. Stuttgart 1962
- (44) Hlad, C.J., H. Elrick, F.A. Witten:
Studies on the kinetics of glucose utilisation. J.clin. Invest. 35, (1956) 1139-1149
- (45) Hogeboom, G.H., W.C. Schneider:
Intracellular distribution of enzymes. XI Glutamic dehydrogenase. J. biol.Chem 204, (1953) 233-238
- (46) Hohorst, H.J.:
Persönliche Mitteilungen an Prof. E. und F.W. Schmidt
- (47) Holzer, H.:
Kinetik und Thermodynamik enzymatischer Reaktionen in lebenden Zellen und Geweben: In: Ergebnisse der medizinischen Grundlagenforschung. Stuttgart 1956
- (48) Holzer, H., G. Sedlmayr, M. Kiese: Bestimmungen des Blutgehaltes von Leberproben zur Korrektur biochemischer Analysen. Biochem.Z. 328, (1956) 176-186 (s.auch Biochem.Z.329, (1957) 117-118)
- (49) Husmann, F.:
Hormonale Kontrazeption. München 1970
- (50) Jacobi, J.:
Diabetes und Schwangerschaft aus der Sicht des Internisten. Deutsch. Med. Journal 23, (1972) 121-124

- (51) Inaba, K., A. Wakabayashi, T. Oda:
Localisation of tricarbon-acid cycle dehydrogenases in
the mitochondria. *Acta Med. Okayama* 21, (1967) 167-176
- (52) Kaffarnik, H., W.D. Gassel, H. Lehnert, J. Schneider,
P. Zöfel, J.G. Meyer-Bertenrath, R. Karszina:
Befunde verschiedener Blutwerte unter Ovulationshemmer.
Münch. med. Wschr. 113, 20: (1971) 757-762
- (53) Kalkhoff, R.K., K.R. Hornbook, H.B. Burch, D.M. Kipnis:
Studies of the metabolic effects of acute insulin de-
ficiency. II. Changes in hepatic glycolytic and Krebs
cycle intermediates and pyridine nucleotides. *Diabetes*
15 (1966) 451-456
- (54) Karmen, J.:
Transaminase activity in human blood.
J. clin. Invest. 34, (1955) 126-133
- (55) Knoche, J., F. Hartmann: Einfluß von Hunger und Best-
scher Mangelkost auf Adenosinphosphate und glykolyti-
sche Enzyme in der Rattenleber. *Biochem. Z.* 334, (1961)
269-278
- (56) Koller, S.:
Neue graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer
Zahlen. Darmstadt 1969, 4. Auflage
- (57) Kopelovich, L., J.R. Sabine:
Control of lipid metabolism in hepatomas: Effects of
fasting and dietary fat on the activities of several
glycolytic and Krebs-cycle enzymes in mouse liver and
hepatomas BW 7756: *Biochim. Biophys. Acta* 202, (1970)
269-276
- (58) Kühn, H.A.:
Leber und Schwangerschaft. *Materia med. Nordmark* 17,
(1965) 213-216
- (59) Lee, M., J.R. Debro, S.P. Lucia:
Effects of thyroxine and pattern of food intake on the
activities of glucose-6-phosphate-dehydrogenase and 6-
phosphogluconate-dehydrogenase. *Arch. Biochem.* 98,
(1962) 49-55

- (60) Lehmann, F.G.:
Glutamat-Dehydrogenase aus menschlicher Leber. II. Verhalten gegenüber Coenzymanalogen und allosterische Eigenschaften. *Klin.Wsch.* 47, (1969) 1045-1047
- (61) Mittenecker, Erich:
Planung und statistische Auswertung von Experimenten.
Wien 1963
- (62) Mokrasch, L.C., W.D. Davison, R.W. McGilvery:
The response to glucogenic stress of fructose-1-6 diphosphatase in rabbit liver. *J. biol. Chem.* 222, (1956) 179-184
- (63) Munnell, E.W., H.C. Taylor:
Liverblood flow in pregnancy.
J.clin. Invest. 26, (1947) 952-956
- (64) Nixon, W., E. Egeli, O. Yahya:
Ikterus in pregnancy. *J.obstet.Gynec.Brit. Eys.* 54, (1947) 642-652
- (65) Noall, M.W., T.R. Riggs, C.M. Walker, H.N. Christensen: Endocrine control of amino acid transfer.
Science 126, (1957) 1002-1005
- (66) v.Oldershausen, H.F., H. Schmidinger, E. Musch, D.Sinn:
Über das Verhalten einzelner Leber- und Serumenzymaktivitäten bei Pankreasdiabetes und hepatogenem Diabetes. *Therap.Woche* 18, (1968) 2034-2037
- (67) Ordell, R.: Summaries and abstractions: in *Intern. Congr.Clin.Chem.* Stockholm 1957
- (68) Pagliaro, L., A. Notarbartolo:
Succinodeidrogenasi e malicodeidrogenasi nel fegato di soggetti diabetici. *Boll.Soc.It.Biol.Sperm.* 37, (1961) 551-553
- (69) Patrick, S.J., J.A. Tulloch: Liver glutamic-aspartic transaminase activity in diabetes. *Lanc.* 1959, 1,2 757-758
- (70) -- Glucose-6-phosphatase activity in human diabetes. *Lanc.* 1957, 1, 811-812

- (71) Potter, van R., C.A. Elvehjem:
A modified method for the study of tissue oxidation.
J.biol.Chem. 114, (1936) 495-504
- (72) Pulkkinen, M., K. William:
Unpublished observation. Acta Physiol. Scand. 68,
suppl. 277, (1966) 167
- (73) -- The effect of oral contraceptions on serum enzymes.
Acta obstet. gynec. scand. 46, (1967) 525-536
- (74) Rathgen, G.H., W. Baumann, C. Schümichen, V. Friedberg:
Untersuchungen zum Kohlenhydratstoffwechsel in der Le-
ber während der Gestation. Arch. Gynäk. 208, (1970)
353-372
- (75) Renold, A.E., G.F.Jr. Cahill:
Diabetes mellitus: In: The metabolic base of inherited
diseases. Mc Graw-Hill N.Y. 1966
- (76) Richterich, R.:
Enzymdiagnostik der Leberkrankheiten.
Schweiz. med. Wschr. 93, (1963) 1363
- (77) Rimbach, E.:
Enzymatologie der Gynäkologie und Geburtshilfe. Die
Therapie des Monats 4, (1961) 118-119
- (78) Rosen, F., N.R. Roberts, L.E. Budnick, C.A. Nichol:
The enzymatic basis for the gluconeogenic action of
hydrocortisone. Sci. 127, (1958) 287-288
- (79) Ross, E.J.:
The "permeability" hypothesis of the action of insulin.
Medicine (Baltimore) 35, (1956) 355
- (80) Rosskopf, R.:
Persönliche Mitteilung
- (81) Sachs, L.:
Statistische Auswertungsmethoden. Berlin 1968
- (82) Schindowski, Schürz:
Statistische Qualitätskontrolle. Berlin 1965

- (83) Schlüssel, H.:
Diabetes in der Schwangerschaft.
Monatsk.ärztl.Fortb. 17, (1967) 436-439
- (84) Schmidt, E., F.W. Schmidt:
Zur Pathophysiologie von enzymatischen Veränderungen
bei Lebererkrankungen. In: Fortschritte der Gastro-
enterologie (E. Wildhirt). Berlin - München 1960
- (85) — Enzymmuster menschlicher Gewebe.
Klin.Wschr. 38, (1960) 957-962
- (86) -- Methode und Wert der Glutamat-Dehydrogenase-Aktivi-
tät im Serum. Klin.Wschr. 40, (1962) 962-969
- (87) -- Enzymmuster in der menschlichen Leber bei Diabetes.
X. Ferment-Aktivitätsbestimmung in der menschlichen
Leber. Klin.-Wschr. 41, (1963) 637-643
- (88) -- Die Auswirkungen verschiedener Extraktionsarten auf
Enzymaktivitätsbestimmungen im Lebergewebe.
Enzymol. biol. clin. 2, (1962/63) 223-232
- (89) -- Wildhirt, E.: Vergleichende Aktivitätsbestimmungen
von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in
der menschlichen und in der Rattenleber. Klin. Wschr.
36, (1958) 172-176
- (90) --- Ergebnisse der Untersuchungen weiterer 7 Enzyme
des energieliefernden Stoffwechsels in der normalen
und pathologisch veränderten Leber. Klin. Wschr. 37,
(1959) 1221-1229
- (91) --- Aktivitätsbestimmungen von Enzymen des energielie-
fernden Stoffwechsels im menschlichen Serum und in Le-
berpunktaten bei Lebererkrankungen. Klin. Wschr. 36,
(1958) 280-287
- (92) --Herfarth, Ch.: Isozyme in der menschlichen Leber und
intracelluläre Lokalisation. IX. Fermentaktivitätsbe-
stimmungen in der menschlichen Leber. Klin. Wschr. 40,
(1962) 1133-1136
- (93) Seale, G.L., I.L. Chaikoff:
Inhibitory action of hyperglycemia on delivery of
glucose to the blood stream by liver of the normal

- dog. Amer.J.Physiol. 170, (1952) 456-460
- (94) Soskin, S., H.E. Essex, J.P. Herrick, F.C. Mann:
The mechanism of the blood sugar by the liver.
Amer.J.Physiol. 124, (1938) 558-567
- (95) - Levine, R.:
Carbohydrate metabolism, Chicago/Ill. 1952
- (96) Stein, J.R., S. Ochoa:
Enzymatic Synthesis of Citric Acid. V. Reaction of
Acetyl Coenzyme. A.J.biol.chem. 198 (1952) 313-321
- (97) Teppermann, J., H.M. Teppermann:
Effects of antecedent food intake pattern on hepatic
lipogenesis. Amer.J.Physiol. 193 (1958) 55-64
- (98) Vilee, C.A.:
Some interactions of steroids pyridine nucleotides and
enzymes. Acta endocr. 42, (1963) 233-239
- (99) - Some interactions of steroids, pyridine nucleotides
and enzymes. Acta Endocr. 42 (1963) 233-239
- (100) Wagle, S.R.:
Studies on Pyruvat-Carboxylase activity in alloxan
diabetic and normal animals. Biochem.Biophys.Res.
Comm. 14, (1964) 533-536
- (101) Wallfenfels, K., W. Creutzfeldt, H.D. Summ:
Die Enzyme des Kohlehydratstoffwechsels in Leberpunk-
taten von Normalpersonen und Diabetikern. 3. Interna-
tionaler Kongress der Diabetes-Federation 1958.
Stuttgart 1958
- (102) Warburg, O.:
Über die Kristallisation von Gärungsfermenten und
ihre optischen Teste. In: Wasserstoffübertragende
Fermente. Berlin 1948, Freiburg 1949
- (103) - Pyridin, der wasserstoffübertragende Bestandteil
von Gärungsfermenten (Pyridin-Nucleotide). Biochem.
Zschr. 287, (1936) 291-328

- (104) Weber, G., C. Allard, G. De Lamirande, A. Cantero:
Liver glucose-6-phosphatase activity and intracellular
distribution after cortisone administration. *Endo-
crinology* 58, (1956) 40-50
- (105) - Cantero, A.: Studies on hormonal factors influencing
hepatic glucose-6-phosphatase. *Endocr.* 61, (1957) 701-
712
- (106) White, P.:
Pregnancy and diabetes, medical aspects.
Med. Clin.N.Amer. 49, (1965) 1015-1024
- (107) Wieland, O., L. Weiss:
Inhibition of citrate-synthase by palmityl Coenzym,
A. Biochem.Biophys.Res.Comm. 13, (1963) 26-31
- (108) Wilbert, L., T. Hillmer, W. Hunstein, P. Reisert,
K. Kaboth, W. Creutzfeld:
Einfluß oraler Ovulationshemmer auf klinisch-chemi-
sche Normalwerte. *Dtsch.med.Wschr.* 94,16 (1964) 844-
849
- (109) Yieling, K.L., G.M. Tomkins:
Structural alterations in crystalline glutamic dehydro-
genase induced by steroid hormones. *Proc.nat.Acad.
Sci. (Wash.)* 46 (1960) 1483-1488
- (110) Yieling, K.L., G.M. Tomkins: Studies on the interaction
of steroid hormones with glutamatic dehydrogenase.
Recent. Progr. Hormone Res. 18 (1962) 467-489



Herrn Prof. Dr. G.H. Rathgen bin ich für die Überlassung des Themas, die freundliche Hilfe und die wertvollen Hinweise bei der Entstehung dieser Arbeit sehr zum Dank verpflichtet.

Danken möchte ich auch Frau Dr. Ehrenberg-Kieckebusch (Institut für med. Statistik und Dokumentation der Universität Mainz) für die Beratung und Hilfe bei der statistischen Auswertung.

L e b e n s l a u f

Am 6.9.1945 wurde ich, Johannes Michael Klug, als Sohn des Zollbeamten August Klug und seiner Ehefrau Sophie, geb. Woitzik, in Quellental, Ober-Schlesien, geboren.

Wegen der Kriegssereignisse mußten meine Eltern Oberschlesien verlassen und kamen nach Neuhof im Kreise Fulda.

1950 zogen wir nach Fulda. Hier besuchte ich von 1952 bis 1957 die Volksschule, von 1957 bis 1963 die Realschule "Marianum". Meine höhere Schulausbildung setzte ich bis zu meinem Abitur im Jahre 1966 an der Ulrich-von-Hutten-Schule in Schlüchtern fort.

Von April 1966 bis November 1969 studierte ich an der Universität Erlangen-Nürnberg Medizin, anschließend an der Universität Mainz Medizin und Kunstgeschichte, wo ich auch das ärztliche Staatsexamen am 3.12.1971 bestand.

Als Medizinalassistent war ich am Dreieichkrankenhaus in Langen, Kreis Offenbach, und am Kreiskrankenhaus Neuenbürg, Württemberg, tätig. Ab 15. August 1972 bin ich als Assistenzarzt am Bürgerspital Solothurn, Schweiz, angestellt.

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80